CURSO POR CONVENIO: ABA- GRUPO RIOPLATENSE DE CITOMETRÍA DE FLUJO.

APLICACIONES DE LA CITOMETRÍA DE FLUJO EN LA PRÁCTICA CLÍNICA

Fundamentos básicos de la Citometría de Flujo y Fluorocromos.

1er clase (Duración 1,5hs)

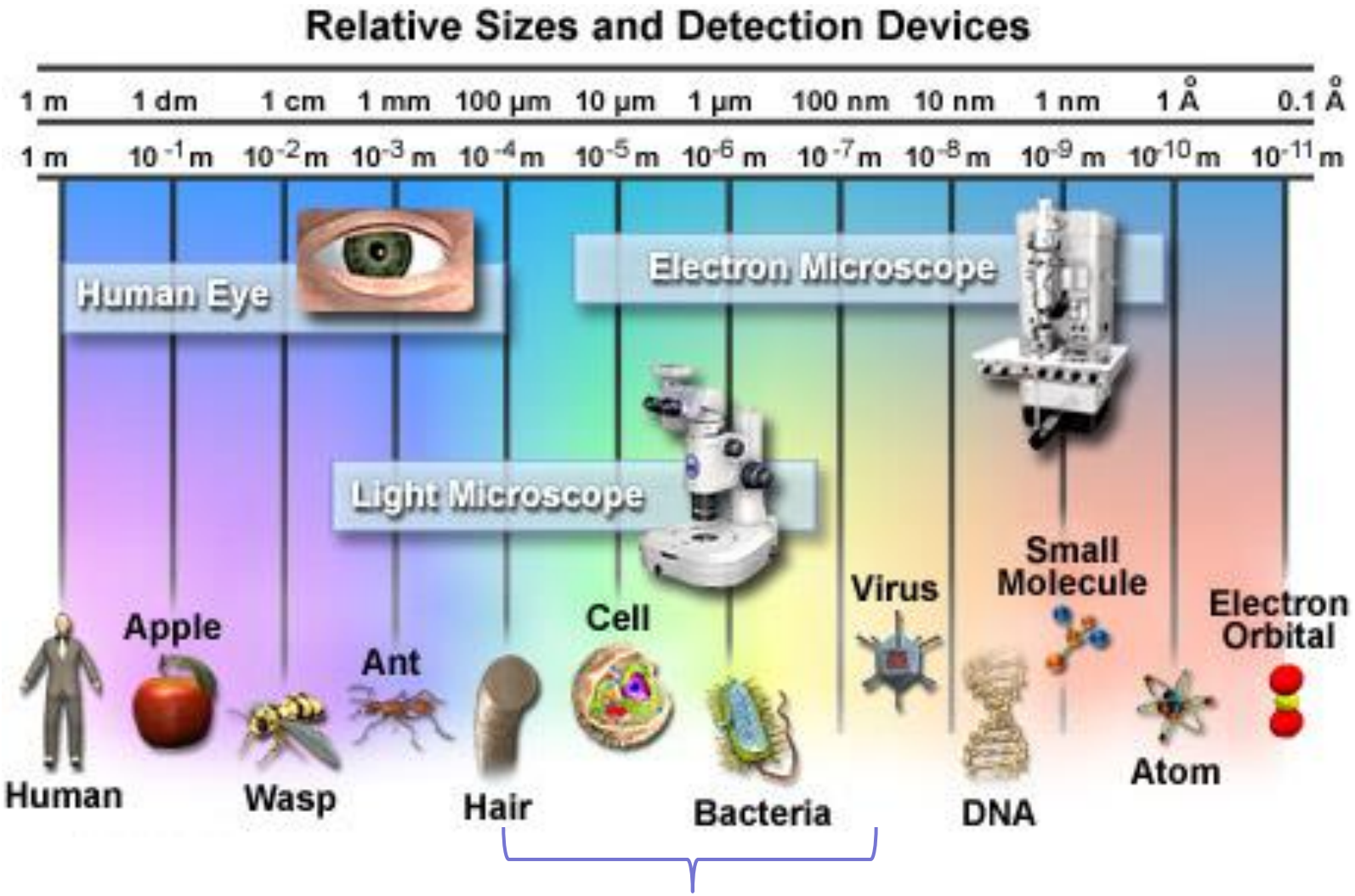
Dr. L. Pablo Schierloh, Instituto de I+D en Bioingeniería y Bioinformática IBB-UNER-CONICET.
pschierloh@ingenieria.uner.edu.ar

Fundamentos básicos de la Citometría de Flujo. Fluorocromos.

- Historia y Funcionamiento básico del citómetro
- Sistemas que componen el equipo
- Representación gráfica de datos y análisis
- Flow sorting
- Fluorocromos en citometría de flujo

Citometría:

Toda información que se obtenga de la célula



Campo de la Citometría

Citometría Estática
Microscopio

La herramienta más importante para determinar estructura y organización celular y tisular

Desventajas de las observaciones con microscopio:

- **Subjetivas**: dependen del entrenamiento y experiencia del operador.
- **Laboriosas** y acotadas al estudio de pocas células
- Difícil de **cuantificar.**

Citometría Dinámica
(Citometría de Flujo)

Analiza las partículas individuales suspendidas en un ***sistema de flujo***. ***Medición rápida*** se efectúa cuando la partícula atraviesa un ***área de registro (punto de interrogación).*** Citómetros de Flujo pueden detectar emisiones fluorescentes además de diferenciar partículas por su forma.

Ventajas:

- Permite estudiar varios parámetros/partícula al mismo tiempo
- + de 10.000 células/min=> $+10^6$ células por muestra
- Estudios más objetivos.
- Ensayos cuantitativos.

Desde la Citometría estática a la *Citometría Dinámica*

Año	Autor/es	Contribución
1883	***Reynolds***	Descripción matemática de partículas en sistemas de flujo.
	1842 –1912	

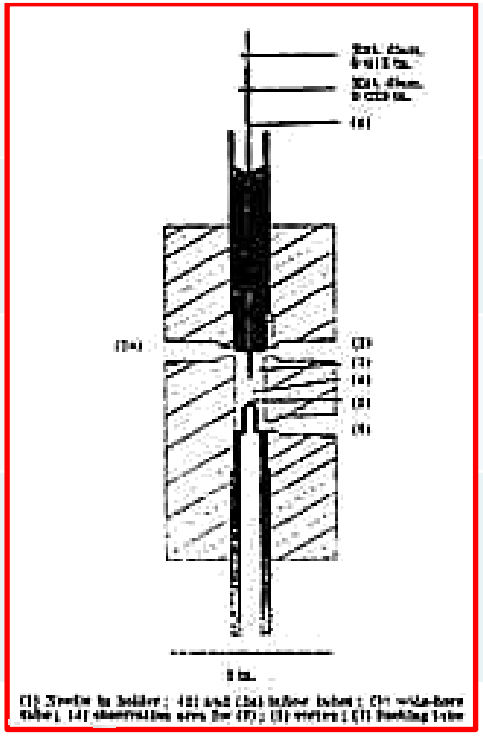
Desde la Citometría estática a la *Citometría Dinámica*

Año	Autor/es	Contribución
1883	***Reynolds***	Descripción de partículas en sistemas de flujo.
1934	***Moldavan***	Photo-Electric Technique for the Counting of Microscopical Cells. ***Science 80:188-189.***

Desde la Citometría estática a la *Citometría Dinámica*

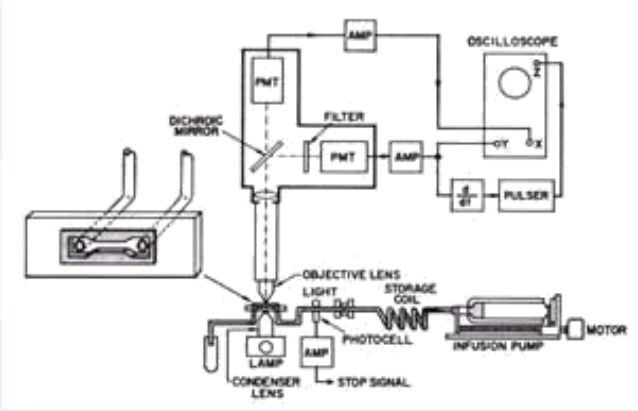
Año	Autor/es	Contribución
1883	***Reynolds***	Descripción de partículas en sistemas de flujo.
1934	***Moldavan***	Photo-Electric Technique for the Counting of Microscopical Cells. ***Science 80:188-189.***
1953	***Crosland & Taylor***	A Device for Counting Small Particles Suspended in a Fluid through a Tube. Institute of Pathology Middlesex Hospital, London. ***Nature*** 171: 37-38.

Celda de Flujo,
"el corazón del equipo"



Desde la Citometría estática a la *Citometría Dinámica*

Año	Autor/es	Contribución
1883	***Reynolds***	Descripción de partículas en sistemas de flujo.
1934	***Moldavan***	Photo-Electric Technique for the Counting of Microscopical Cells. ***Science 80:188-189.***
1953	***Crosland & Taylor***	A Device for Counting Small Particles Suspended in a Fluid through a Tube. Institute of Pathology Middlesex Hospital, London. ***Nature*** 171: 37-38.
1965	***Kamentsky & col***	Spectrophotometer: New instrument for ultrarapid cell analysis, ***Science*** 150, **1965**



Desde la Citometría estática a la *Citometría Dinámica*

Año	Autor/es	Contribución
1883	***Reynolds***	Descripción de partículas en sistemas de flujo.
1934	***Moldavan***	Photo-Electric Technique for the Counting of Microscopical Cells. ***Science 80:188-189.***
1953	***Crosland & Taylor***	A Device for Counting Small Particles Suspended in a Fluid through a Tube. Institute of Pathology Middlesex Hospital, London. ***Nature*** 171: 37-38.
1965	***Kamentsky & col***	Spectrophotometer: New instrument for ultrarapid cell analysis, Science 150, 1965
1968	***Dittrich & Gohde***	**Lámpara de arco (Fuente de luz) =>** medir la **fluorescencia** emitida por las partículas que corrían inmersas en un flujo líquido.

Desde la Citometría estática a la *Citometría Dinámica*

Año	Autor/es	Contribución
1883	***Reynolds***	Descripción de partículas en sistemas de flujo.
1934	***Moldavan***	Photo-Electric Technique for the Counting of ***3-189.***
1953	***Crosla Taylor***	s Suspended in a hology Middlesex 3.
1965	***Kamer & col***	for ultrarapid cell
1968	***Dittric Gohde***	medir la las que corrían
1973-76	***Shapiro & col.***	Varias fuentes de excitación simultanea (***multibean***) => múltiples fluorescencias **(Citometría multicolor)**

Desde la Citometría estática a la *Citometría Dinámica*

Año	Autor/es	Contribución
1883	***Reynolds***	Descripción de partículas en sistemas de flujo.
1934	***Moldavan***	Photo-Electric Technique for the Counting of Microscopical Cells. ***Science 80:188-189.***
1953	***Crosland & Taylor***	A Device for Counting Small Particles Suspended in a Fluid through a Tube. Institute of Pathology Middlesex 37-38.
1965		ument for ultrarapid cell
1968		uz) => medir la artículas que corrían
1973-76		imultanea (multibean) => netría multicolor)
1975	***Köhler & Milstein***	Primer método de producción de **anticuerpos monoclonales.**

1946 –1995

1927 –2002

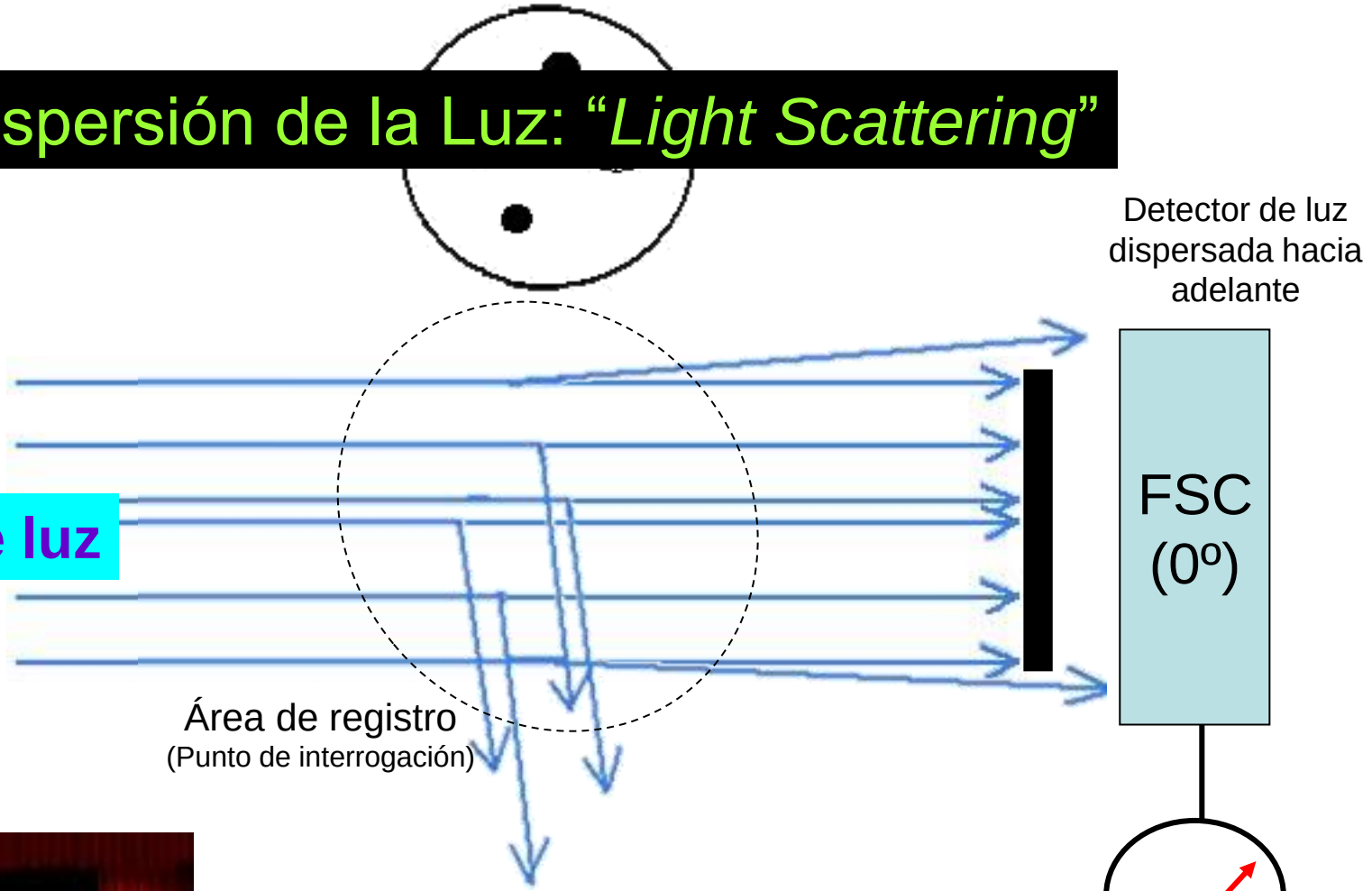
Citómetro de flujo

Determinaciones rápidas, cuantitativas, multiparamétricas y objetivas.

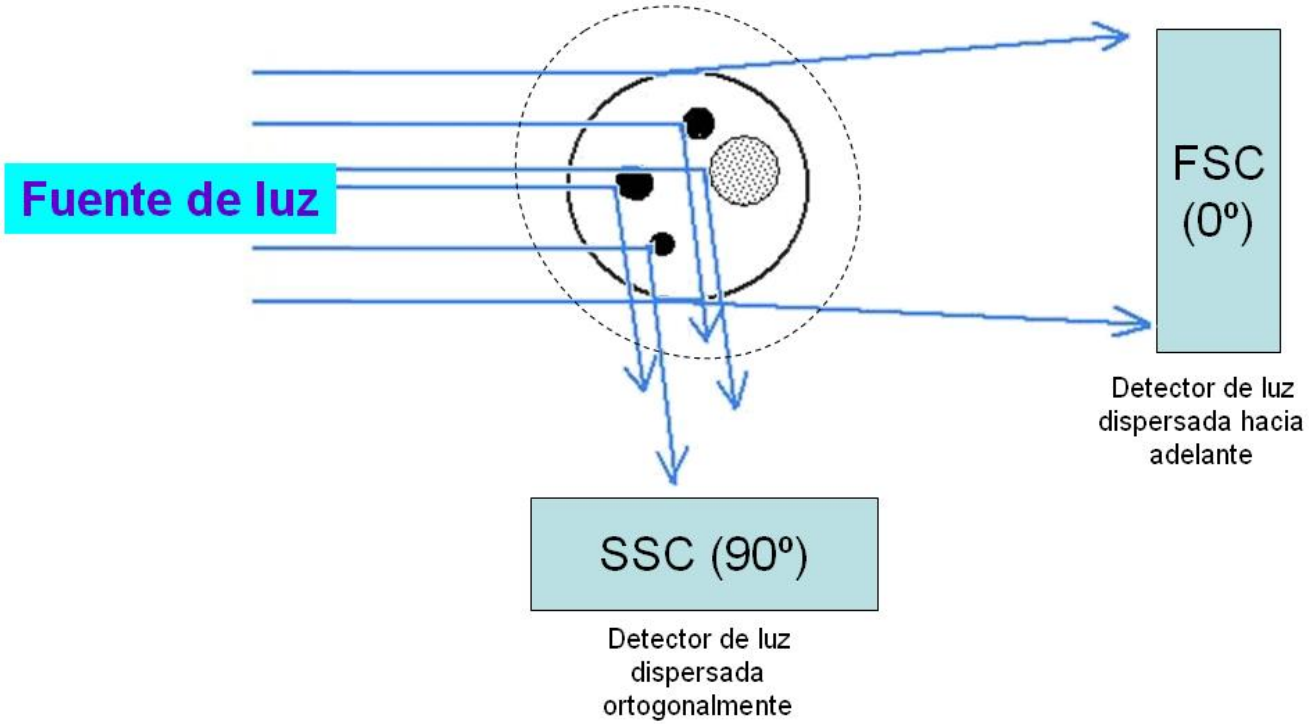
¿Cómo funciona este equipo?

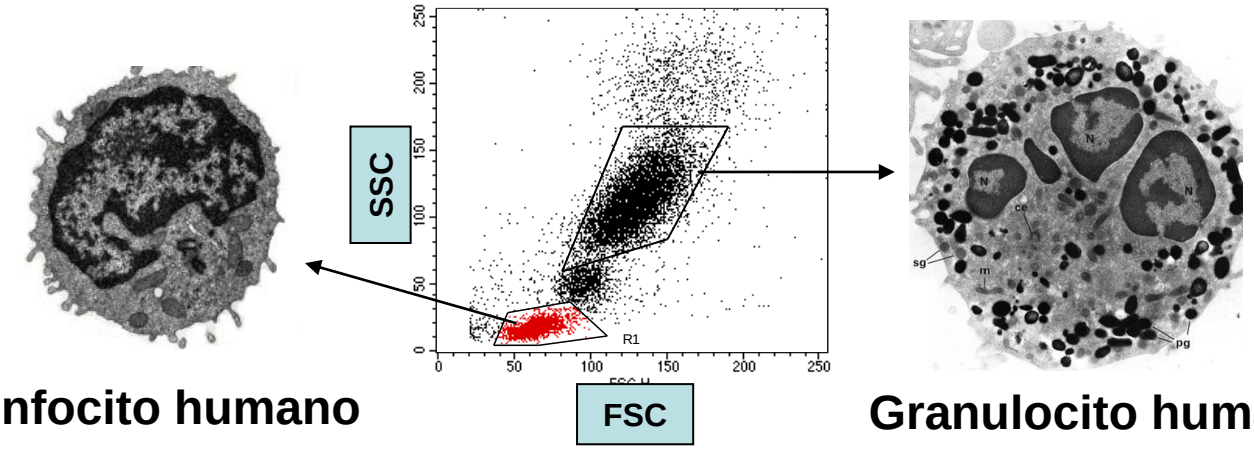
Principio básico funcional del Citómetro

Dispersión de la Luz: "*Light Scattering*"



Principio básico funcional del Citómetro

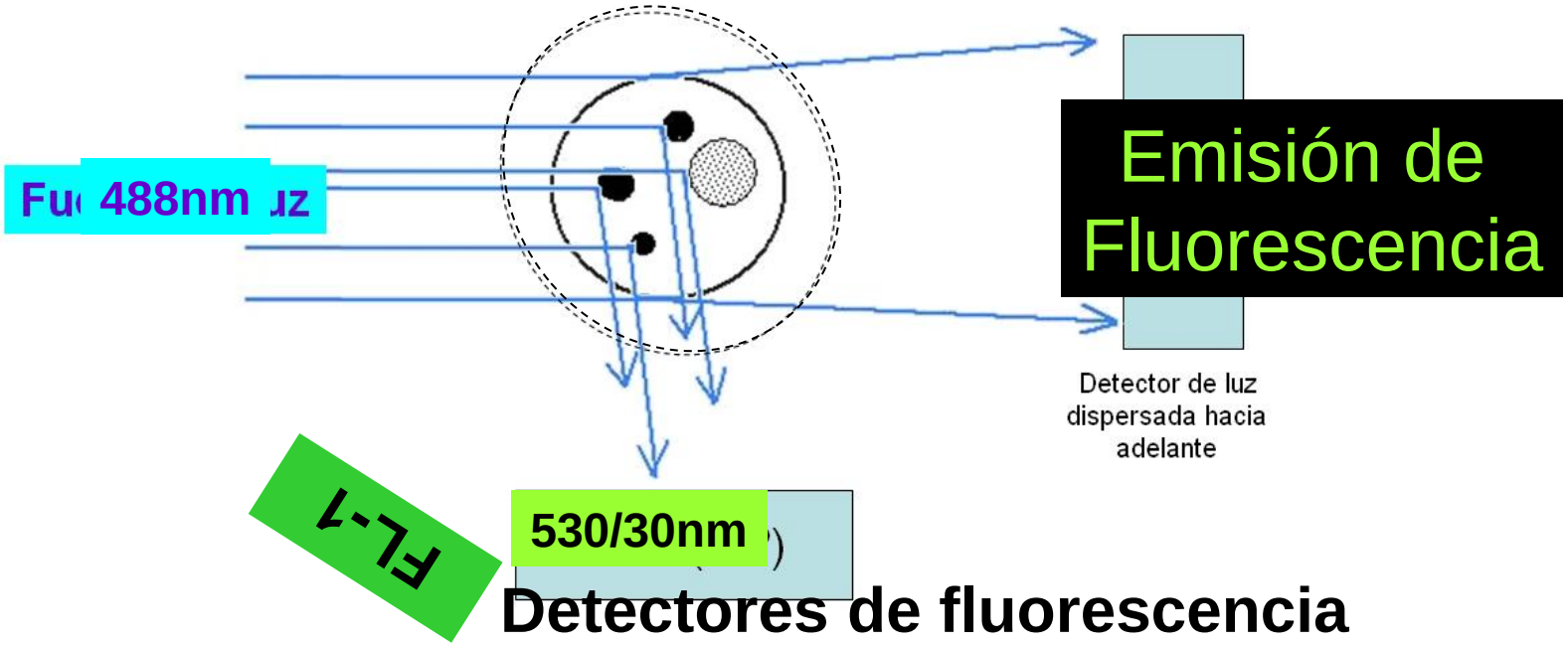




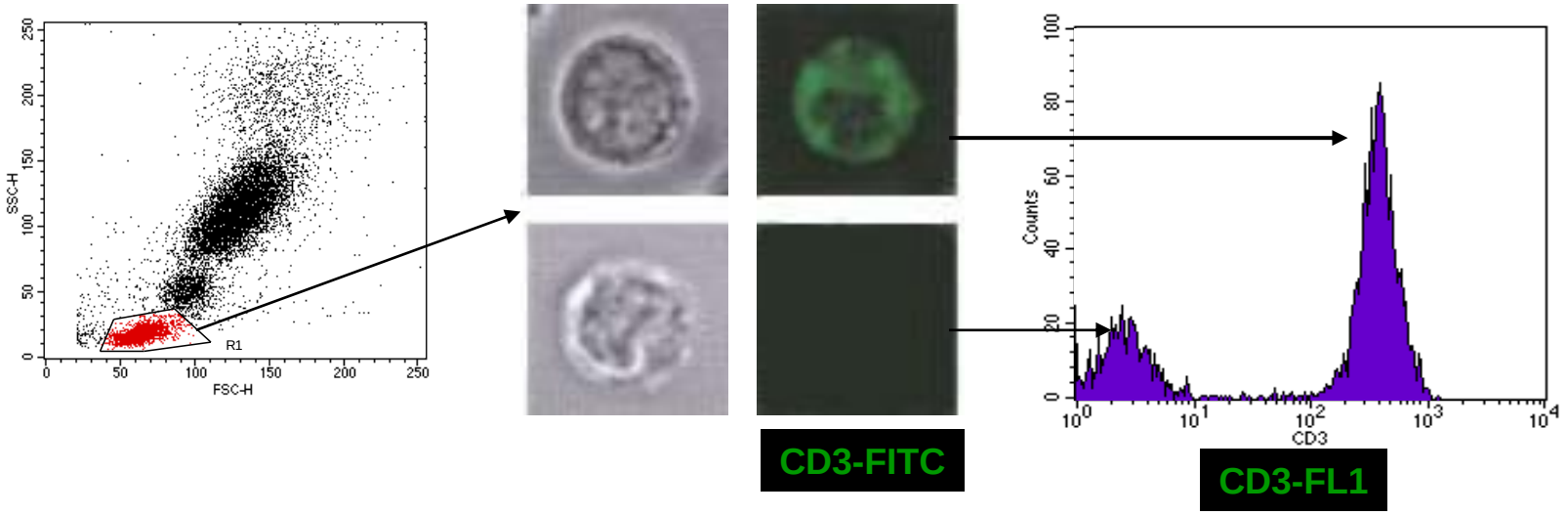
Linfocito humano

Granulocito humano

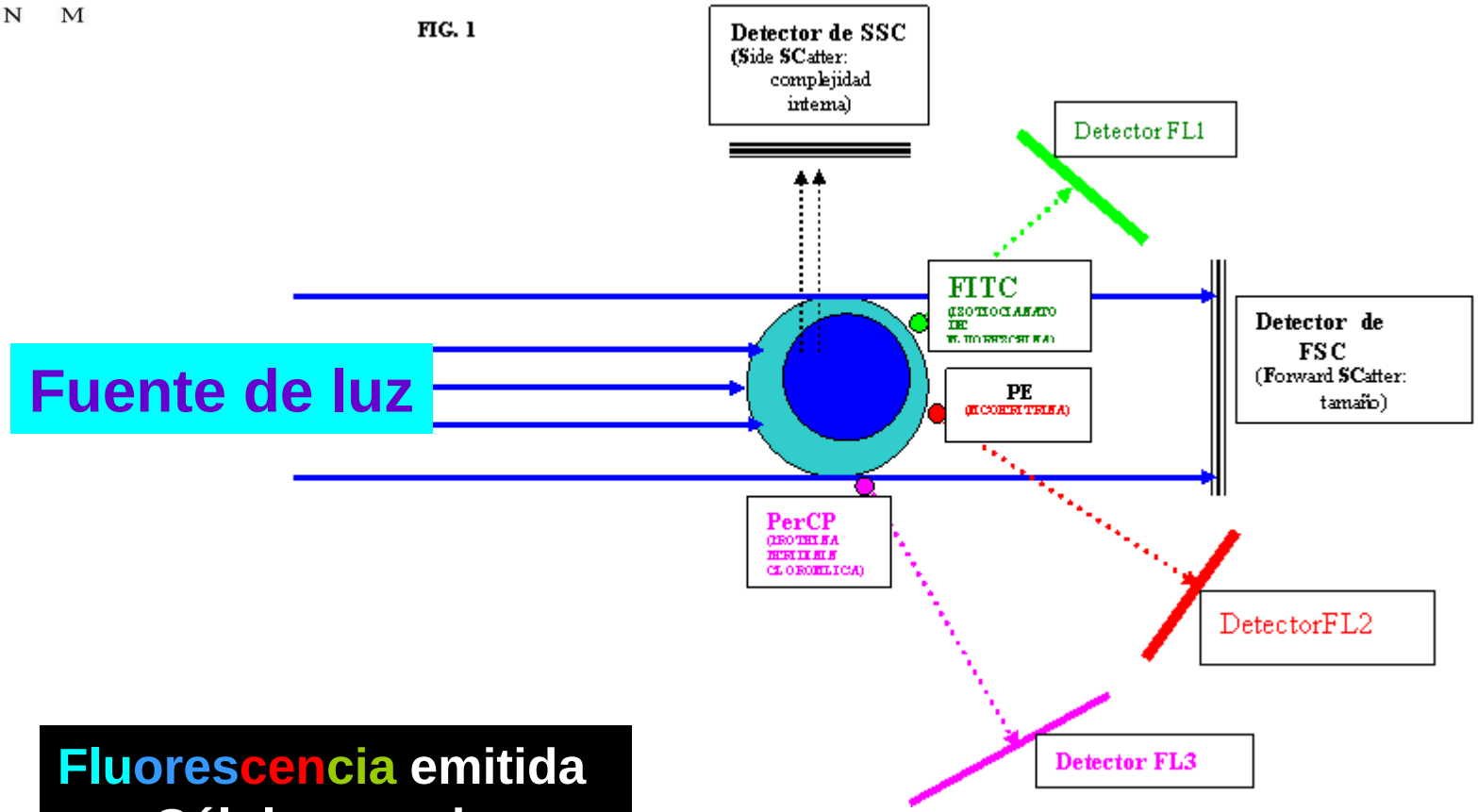
Principio básico funcional del Citómetro



Detectores de fluorescencia



Principio básico funcional del Citómetro



Fluorescencia emitida por Células puede ser:

Auto-fluorescencia:
Pigmentos (ej.: clorofila)
AA aromáticos
Nucleótidos

Tinciones o Sondas Fluorescentes:
Intercalantes de ADN fluorescentes
Ab/lectinas conjugadas a fluorocromos
Ribosondas conjugadas a fluorocromos

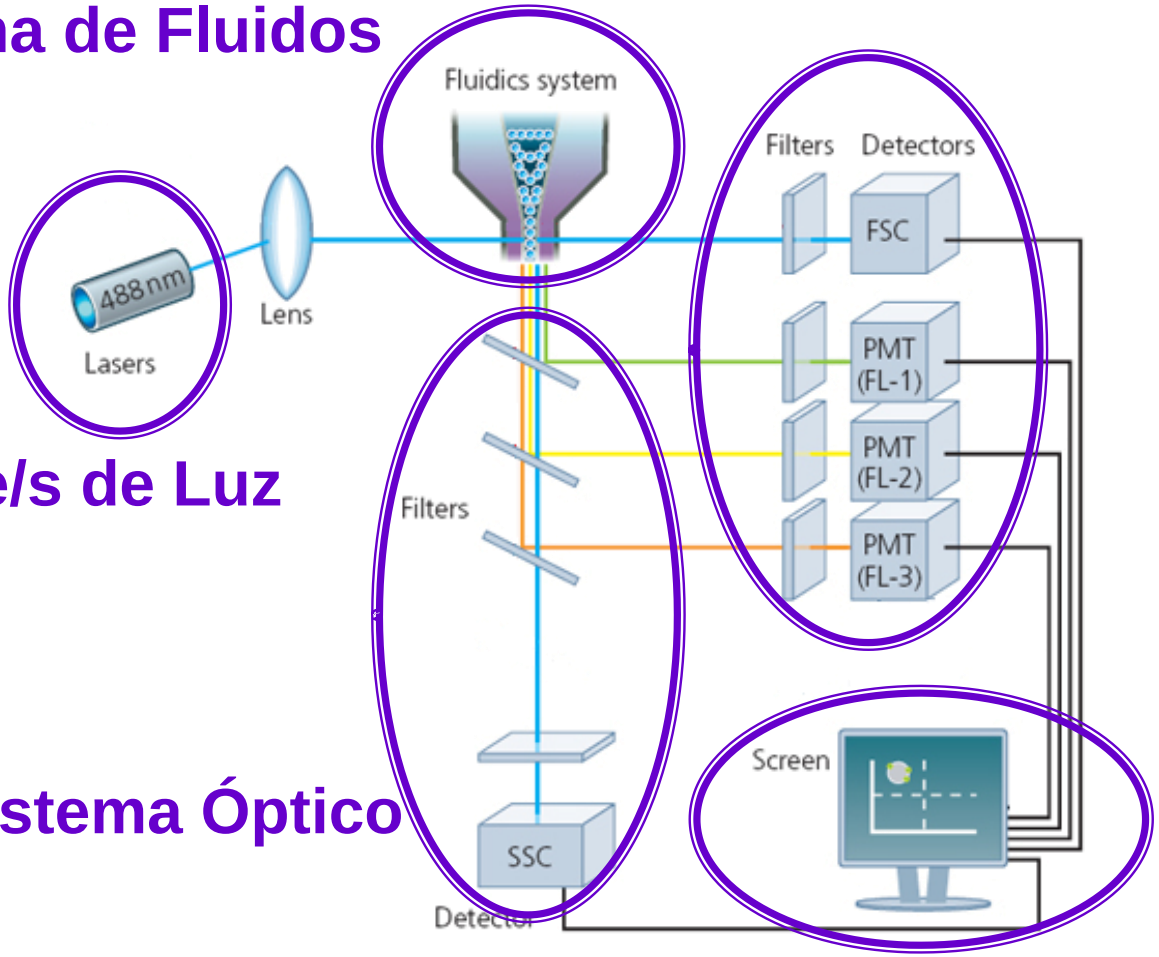
Fundamentos básicos de la Citometría de Flujo. Fluorocromos.

- Historia y funcionamiento básico del citómetro
- Sistemas que componen el equipo
- Representación gráfica de datos y análisis
- Flow sorting
- Fluorocromos en citometría de flujo

Sistemas que componen el Citómetro

Ingeniería multidisciplinaría: óptica, (μ)hidrodinámica, electrónica e informática

1.Sistema de Fluidos

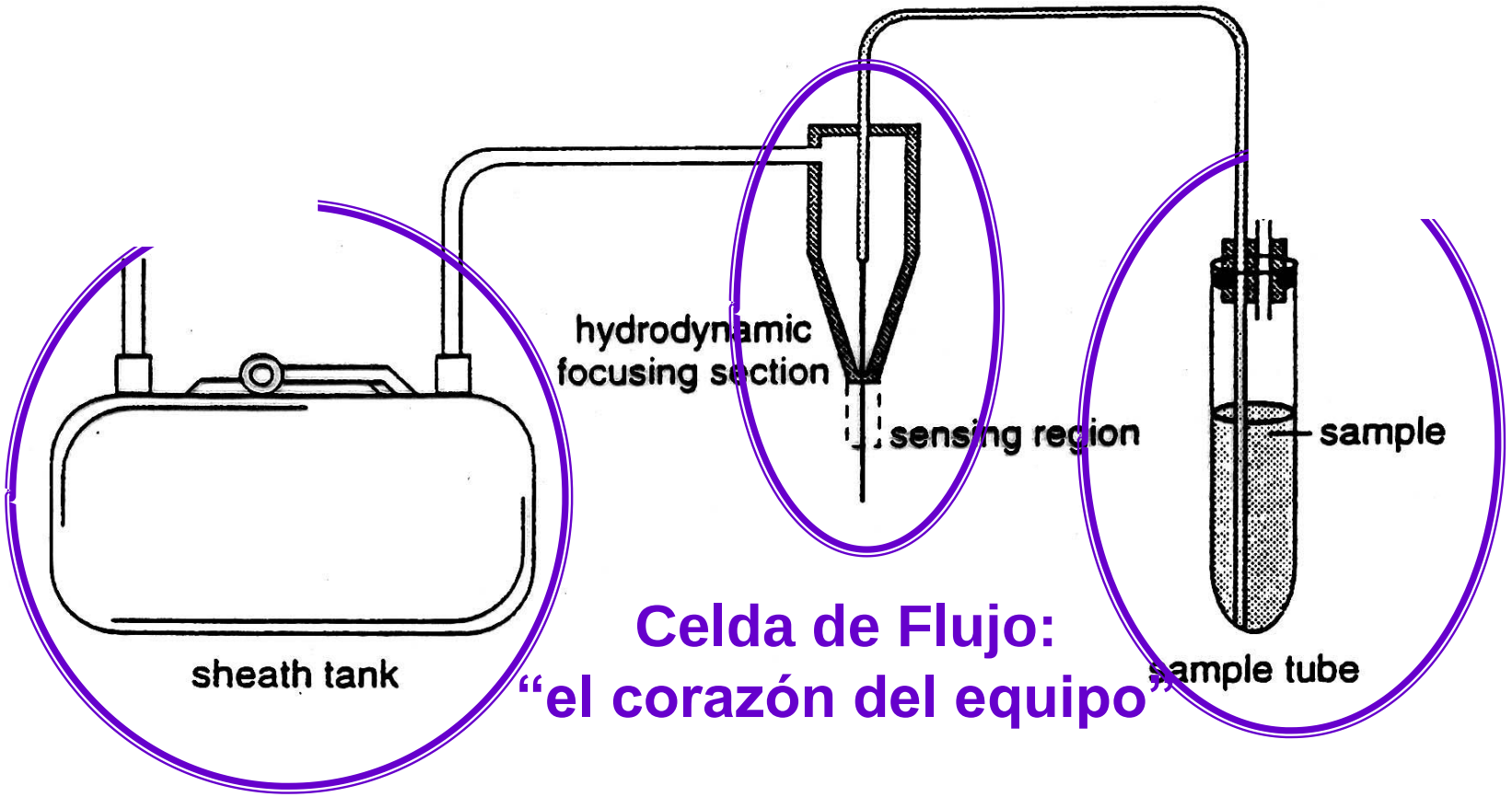


2.Fuente/s de Luz

3.Sistema Óptico

4.Sistema Informático de adquisición de datos

1.Sistema de Fluidos



Celda de Flujo:
"el corazón del equipo"

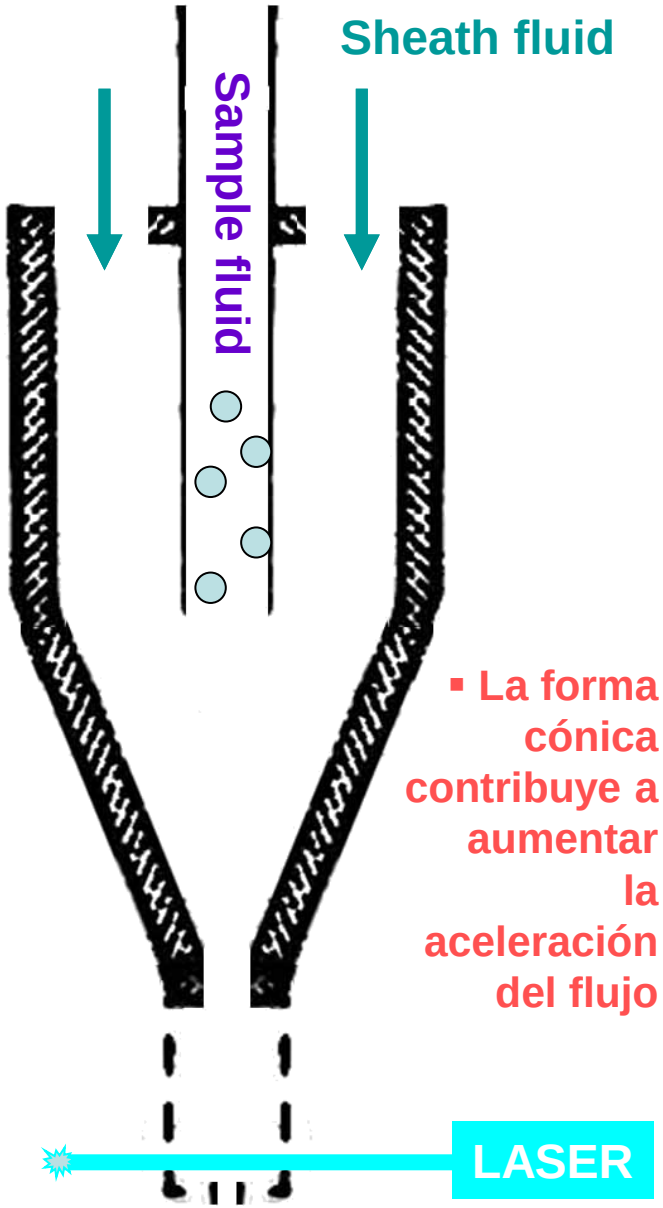
1.Sistema de Fluidos:
La Celda de flujo

El fluido externo (**Sheath fluid**) es bombeado a mayor Velocidad (**5ml/min**) que el fluido que contiene las particulas en suspención (**Sample fluid**) (**100µl/min**)

Enfoque Hidrodinámico

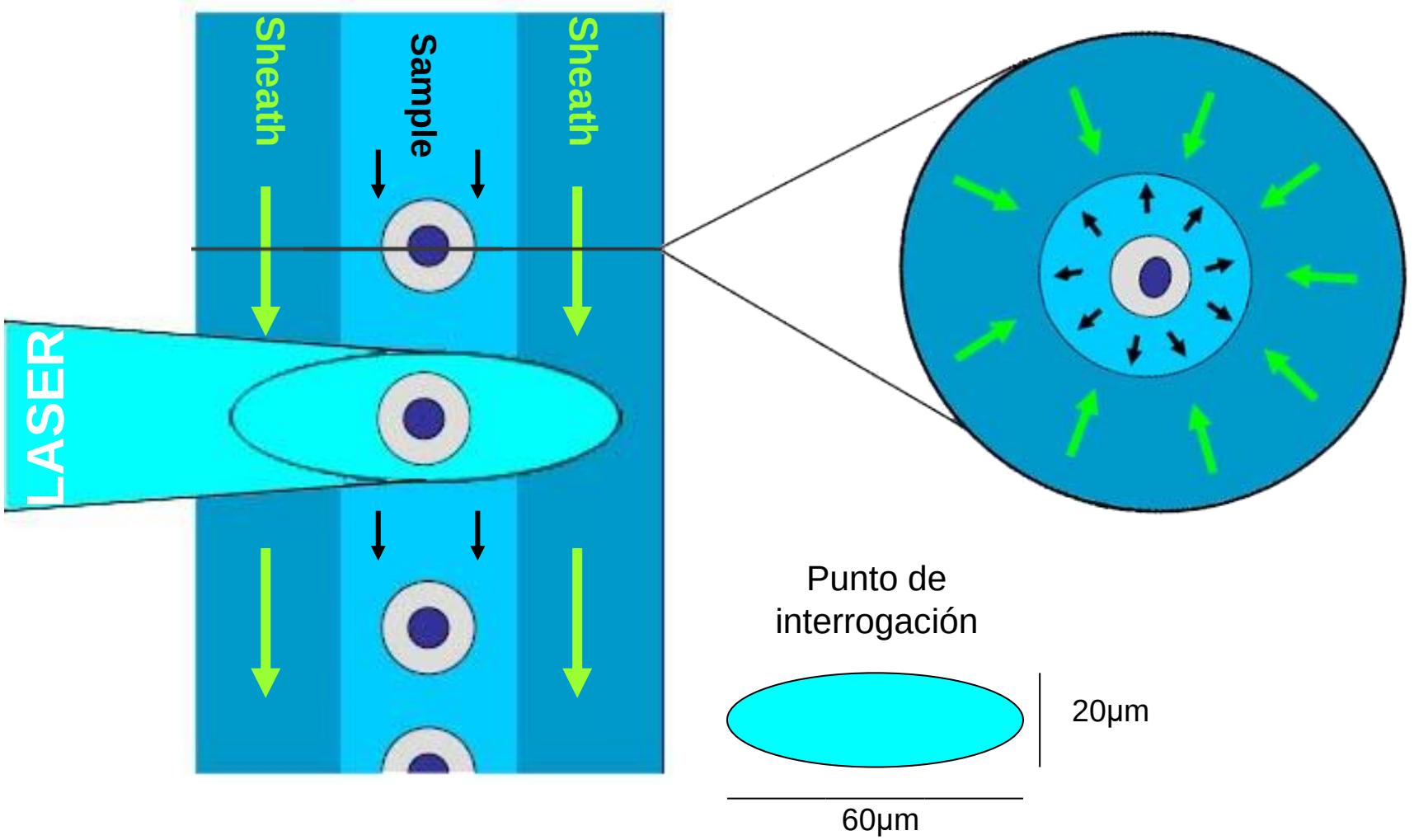
Sheath=Vaina

Sample=Muestra

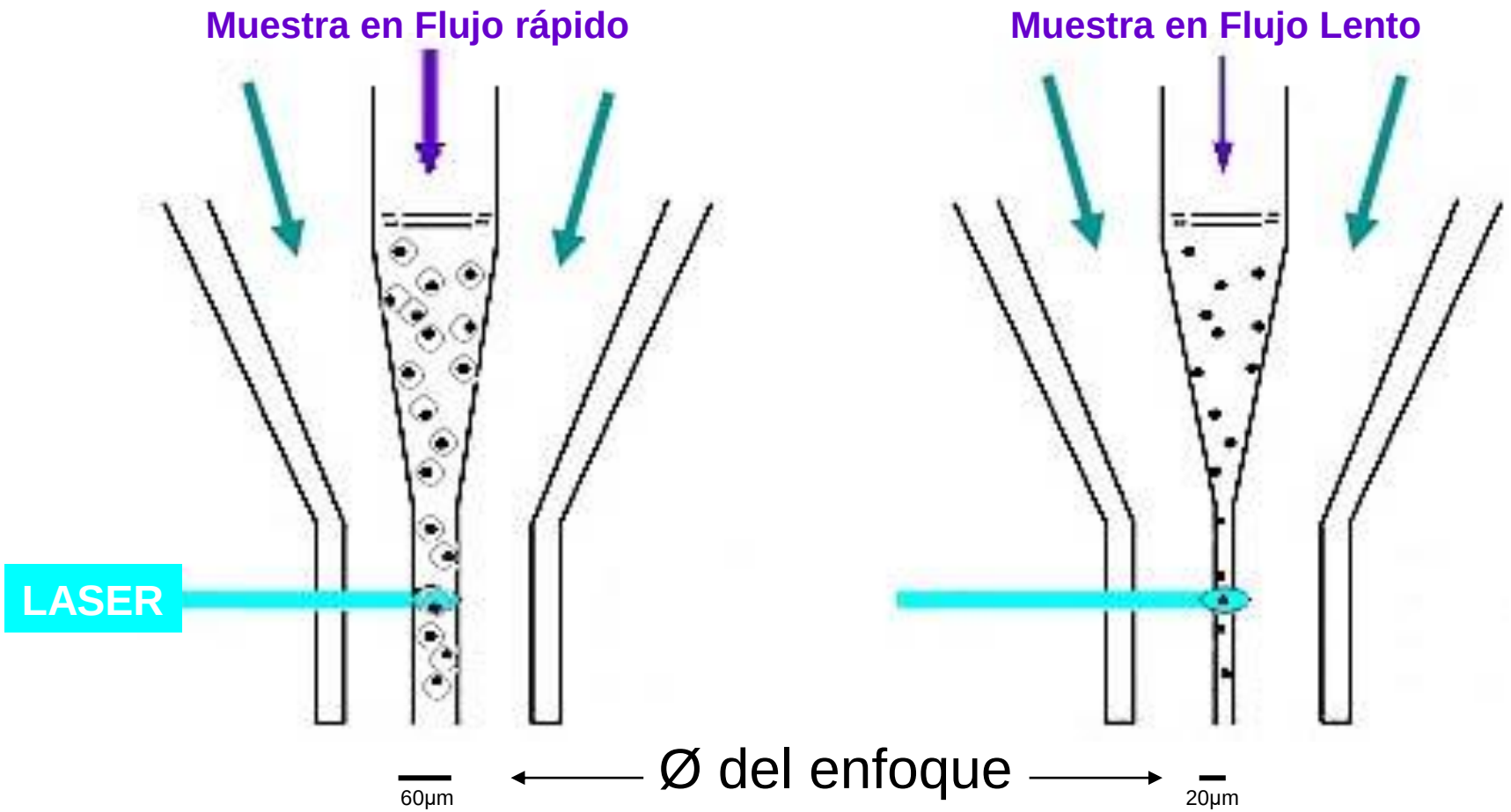


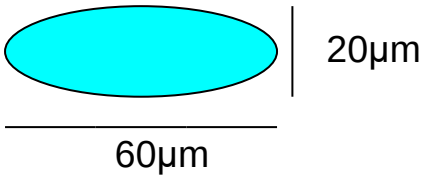
- **La forma cónica contribuye a aumentar la aceleración del flujo**

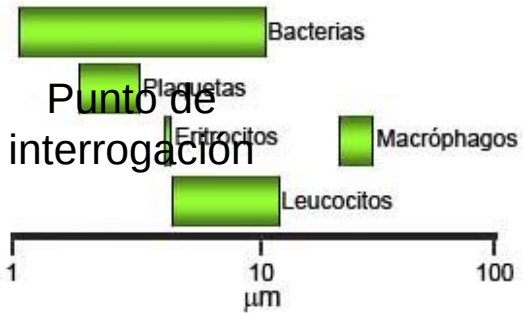
2.Sistema de Fluidos:
Enfoque hidrodinámico



2.Sistema de Fluidos: Velocidad flujo

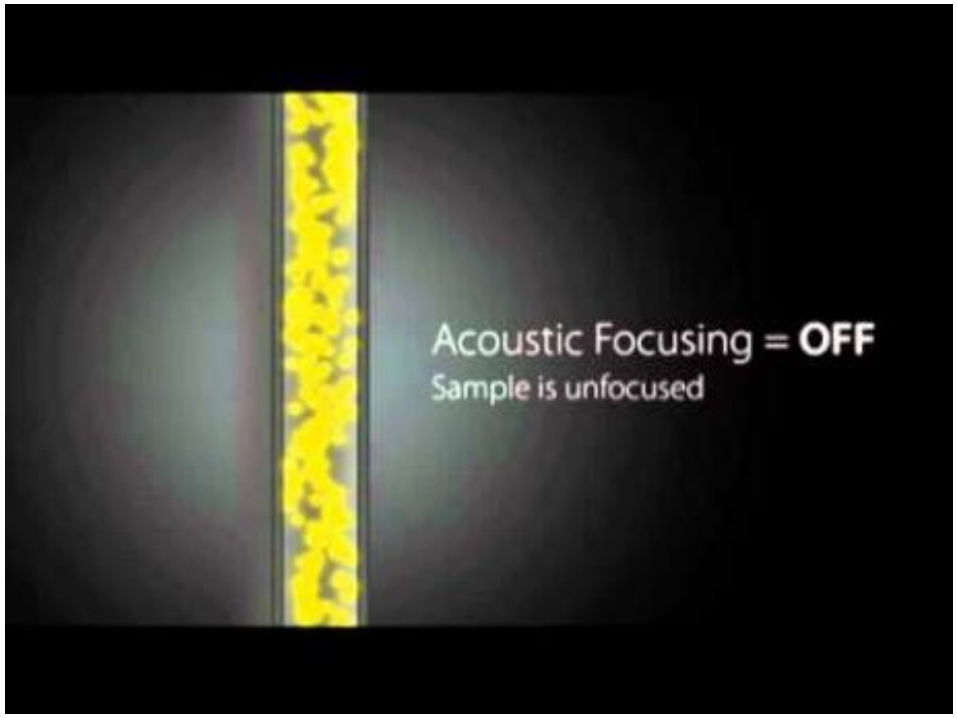


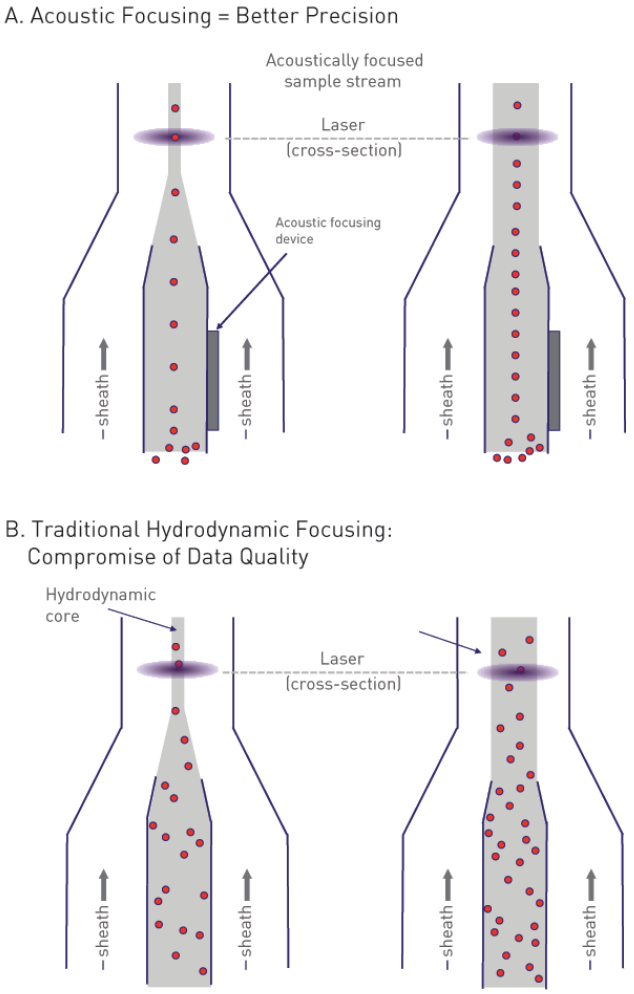




Punto de interrogación

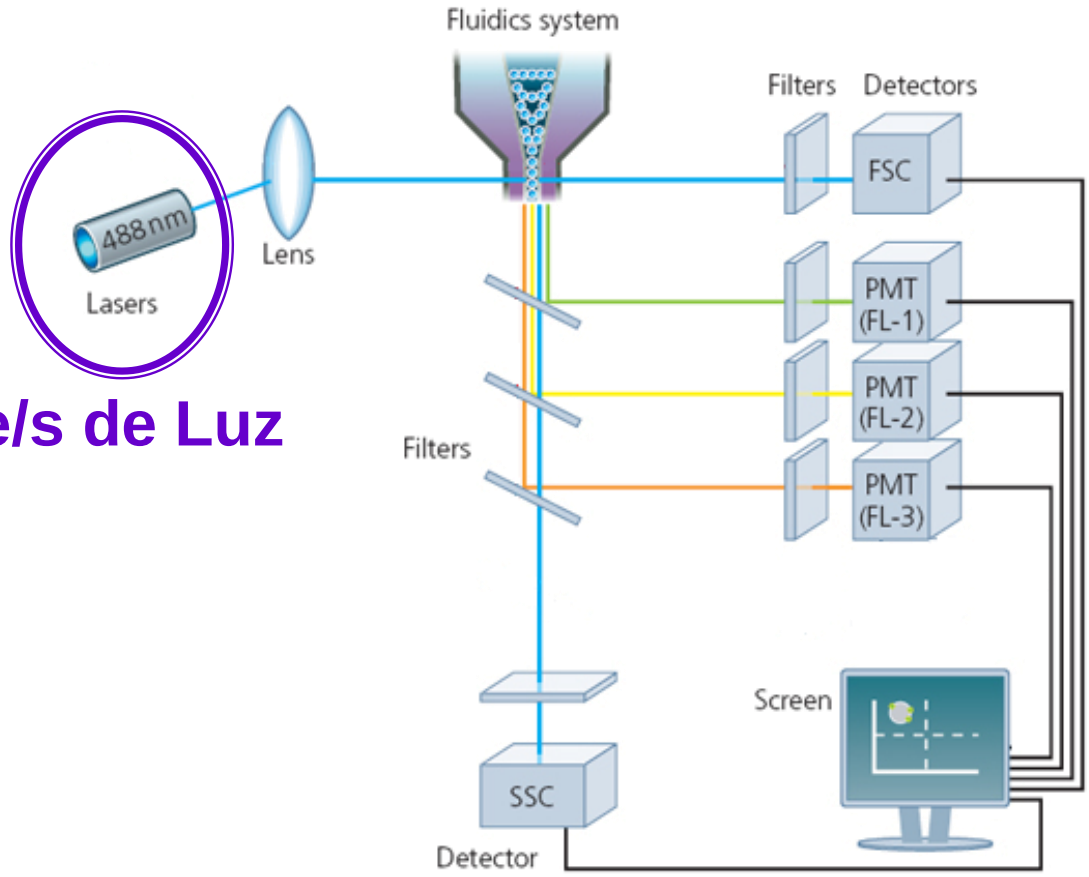
2.Sistema de Fluidos:
Innovación: Enfocado Acústico





Sistemas que componen el Citómetro

2.Fuente/s de Luz



2.Fuente/s de Luz

2.Fuente/s de Luz:
Lámparas de Arco usadas en Citometría

Vida media:

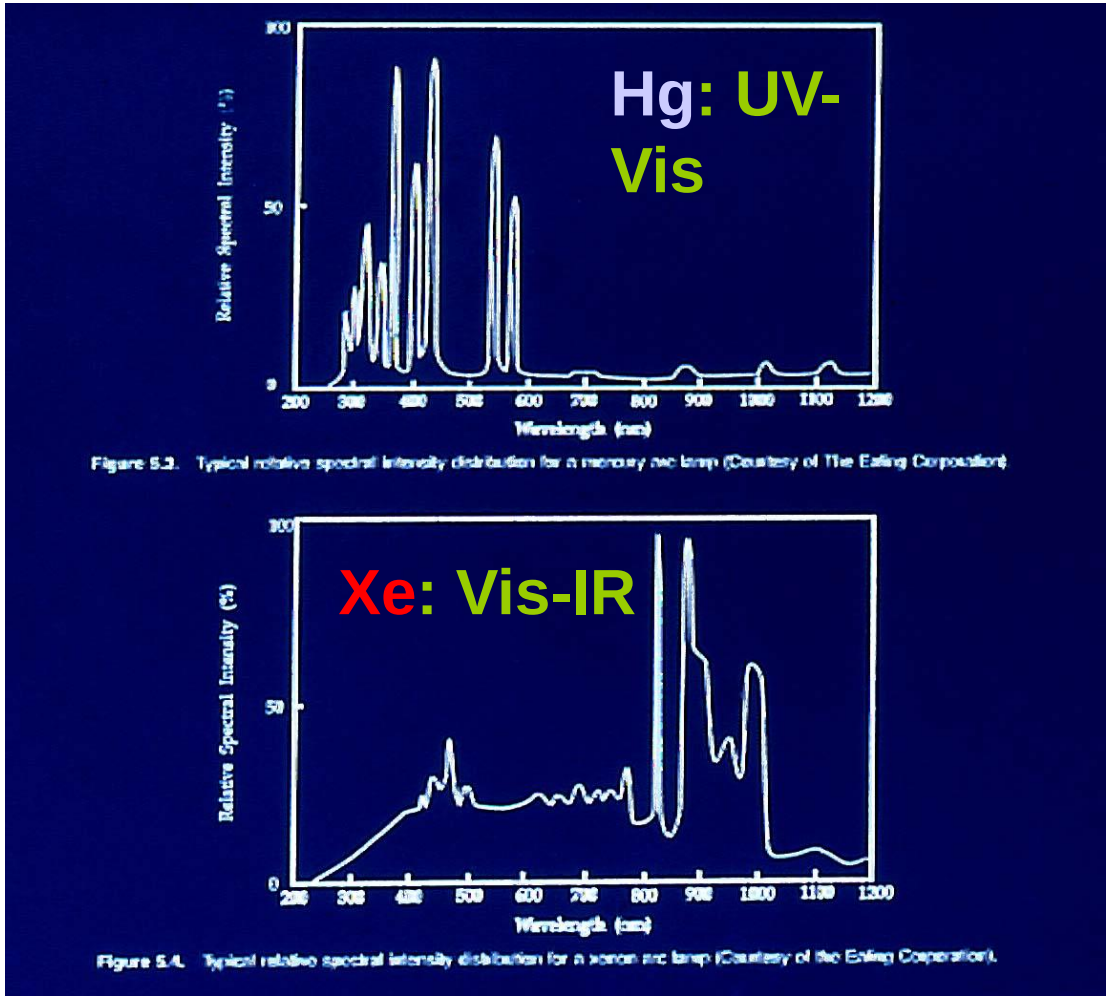
200-400 horas

Lámpara de Mercurio:

365, 405, 435, 546 y 578 nm. Son las utilizadas para excitaciones en el UV

Lámparas de Xenón:

Particularmente útiles para la long de onda más empleada en CF (450 y 540 nm), además de las de long de onda más altas.



2.Fuente/s de Luz:

LASER

(Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation)

LASER en Citometría:

- Son más utilizados en los equipos actuales: **HeCd** (325nm), **Argón** (488nm) y **HeNe** (633nm) que son gases pero pueden ser sólidos.
- Luz ***coherente*** y ***cuasi-monocromática***.
- Vida útil de aproximadamente 5000 horas
- ***Intensidad controlada***, suficiente poder para excitar pero no tanto como para destruir la molécula del colorante.
- El rayo de luz no cambia su forma en todo su recorrido.
- Alta emisión de calor y por lo tanto deben contar con un sistema de enfriado que se logra con agua o aire. La habitación debe contar con refrigeración.

2.Fuente/s de Luz:

LASER

(Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation)

Monocromaticidad

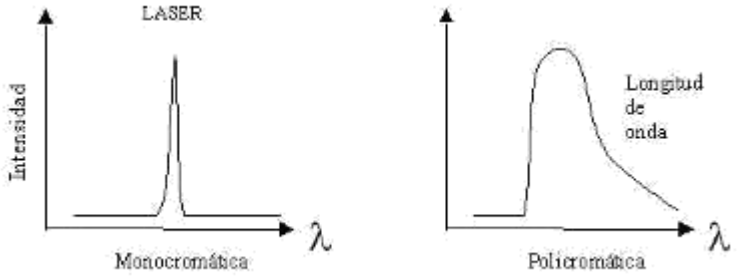


Figura 4

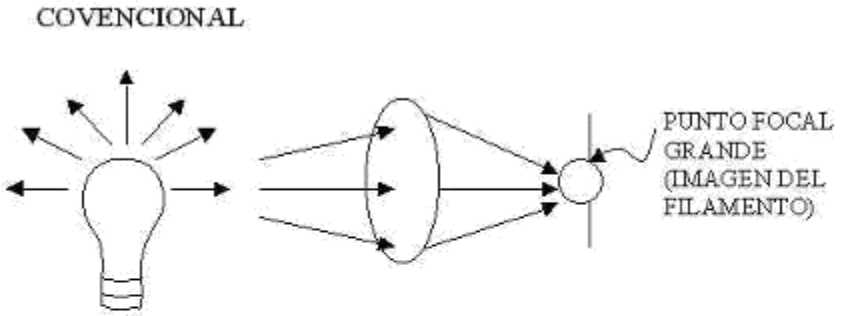
Coherencia

2.Fuente/s de Luz:

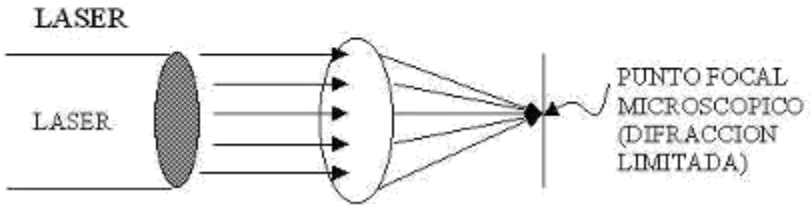
LASER

(Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation)

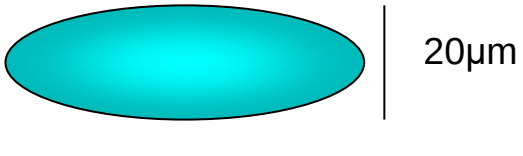
Luz divergente



Haz colimado



Punto de interrogación



2.Fuente/s de Luz:

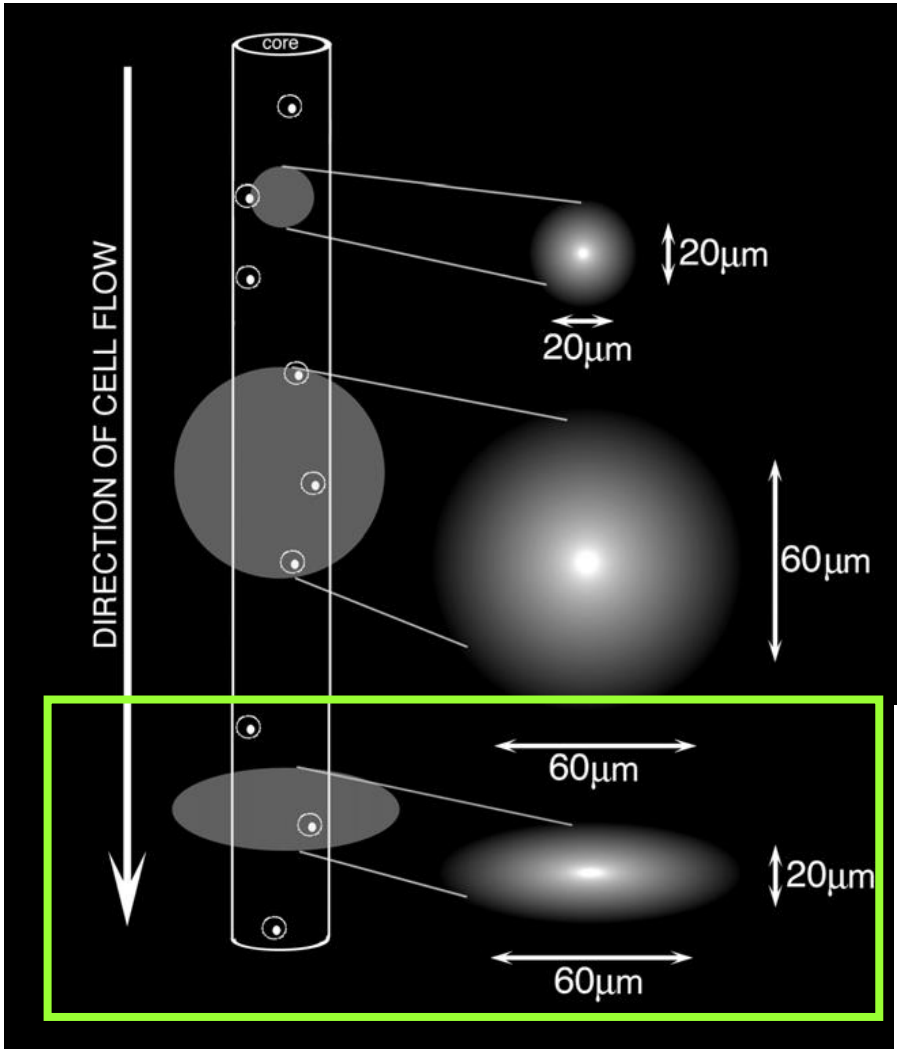
Geometría del punto de interrogación

El foco del LASER tiene una distribución gausiana de intensidad de luz siendo máxima en el centro.

Cuando pasa la partícula por el área de excitación se registra toda la información con la que posteriormente se hará el análisis

La célula, o la partícula debe pasar por el centro del haz

Forma óptima: ELIPSOIDE



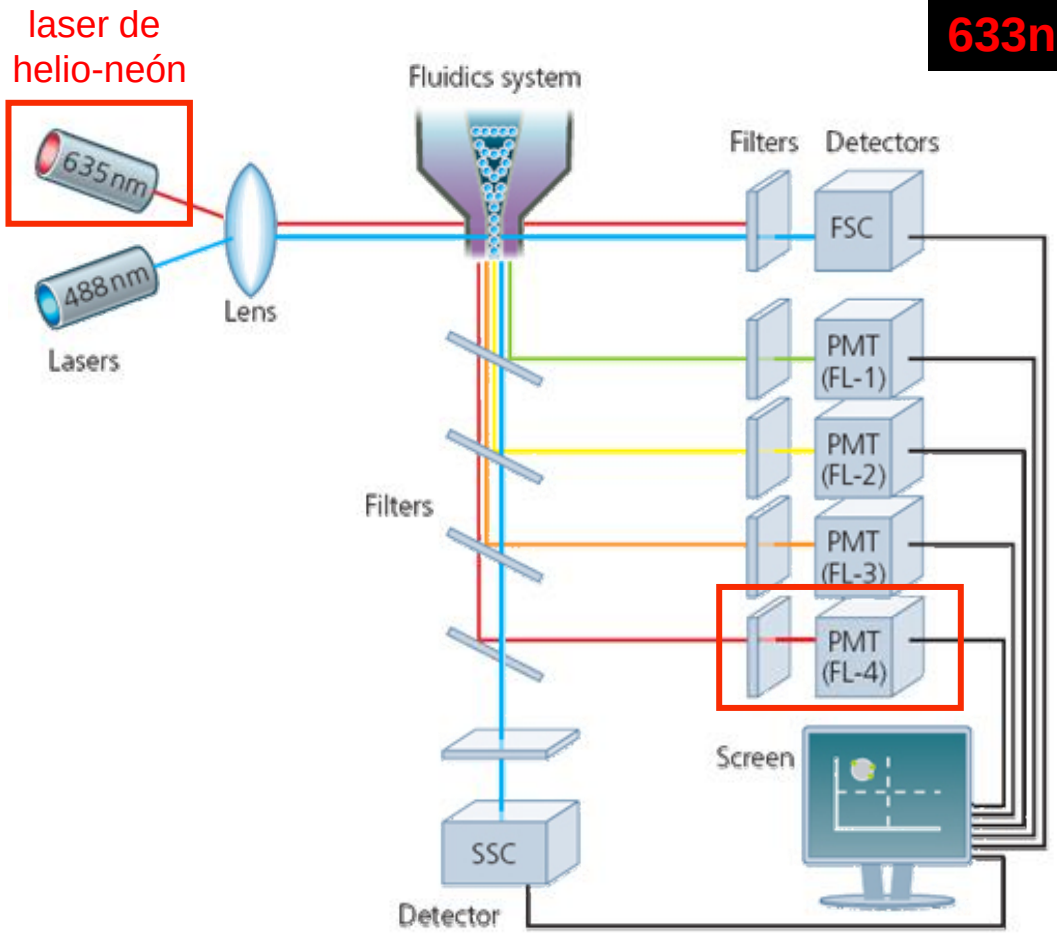
2.Fuente/s de Luz:

Innovaciones: 2 o + Ftes. de luz (multibean)

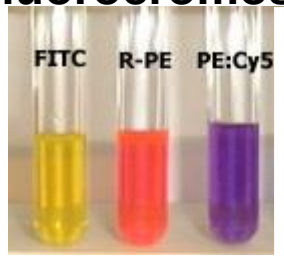
2 Lasers: 4 colores

488nm → FSC, SSC, FL-1, FL-2, FL-3

633nm → FL-4

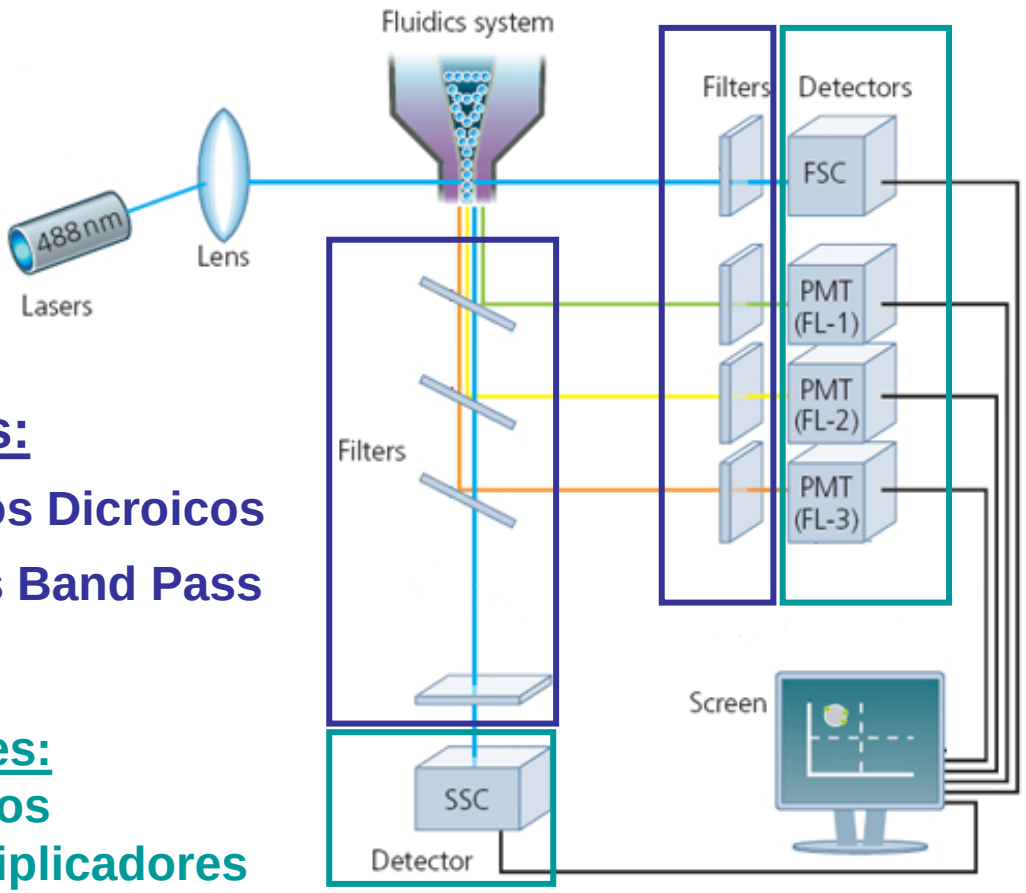


Fluorocromos



FL1 FL2 FL3 FL4

3. Sistema Óptico



Filtros:

Espejos Dicroicos

Lentes Band Pass

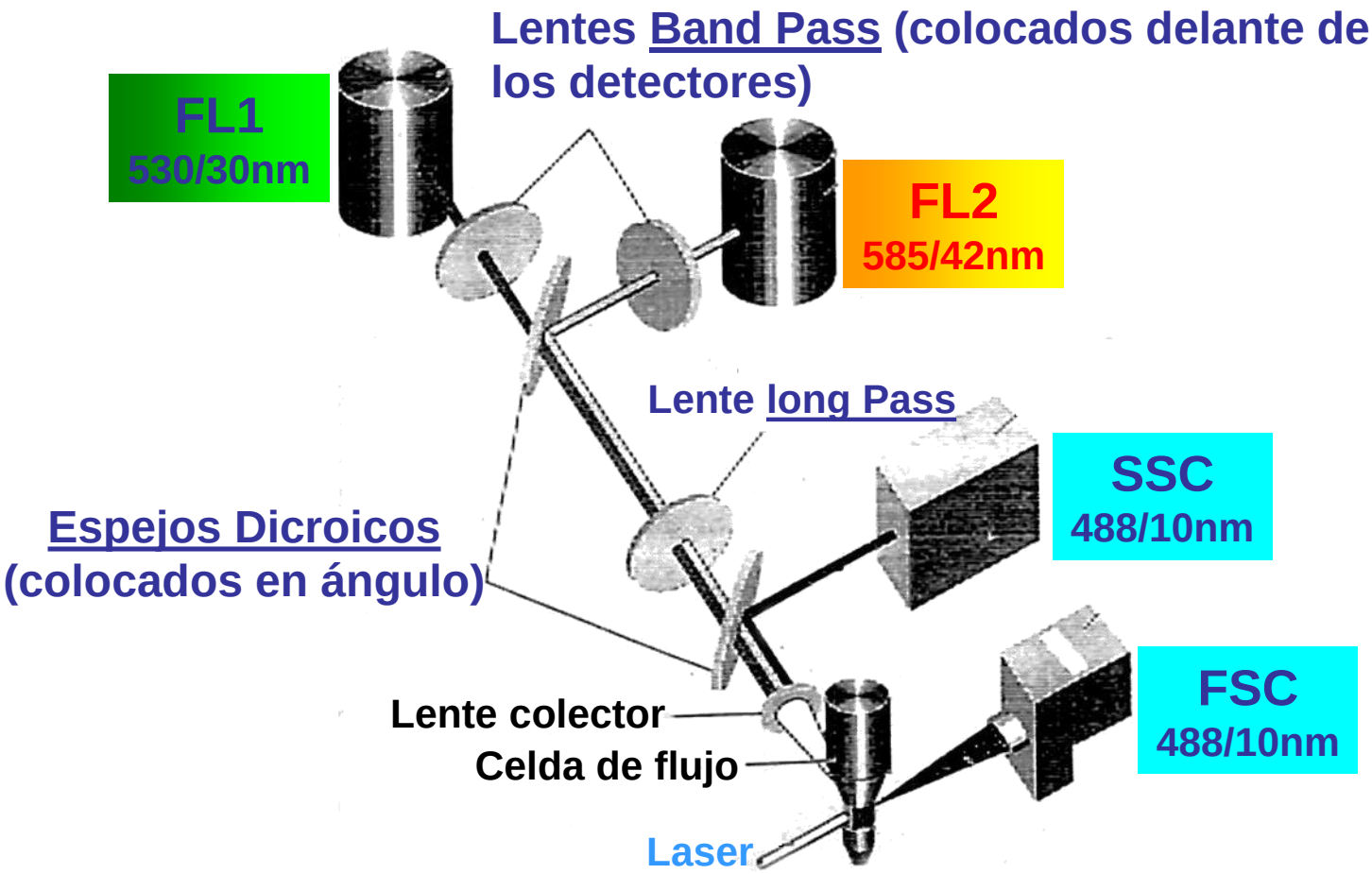
Detectores:

Fotodiodos

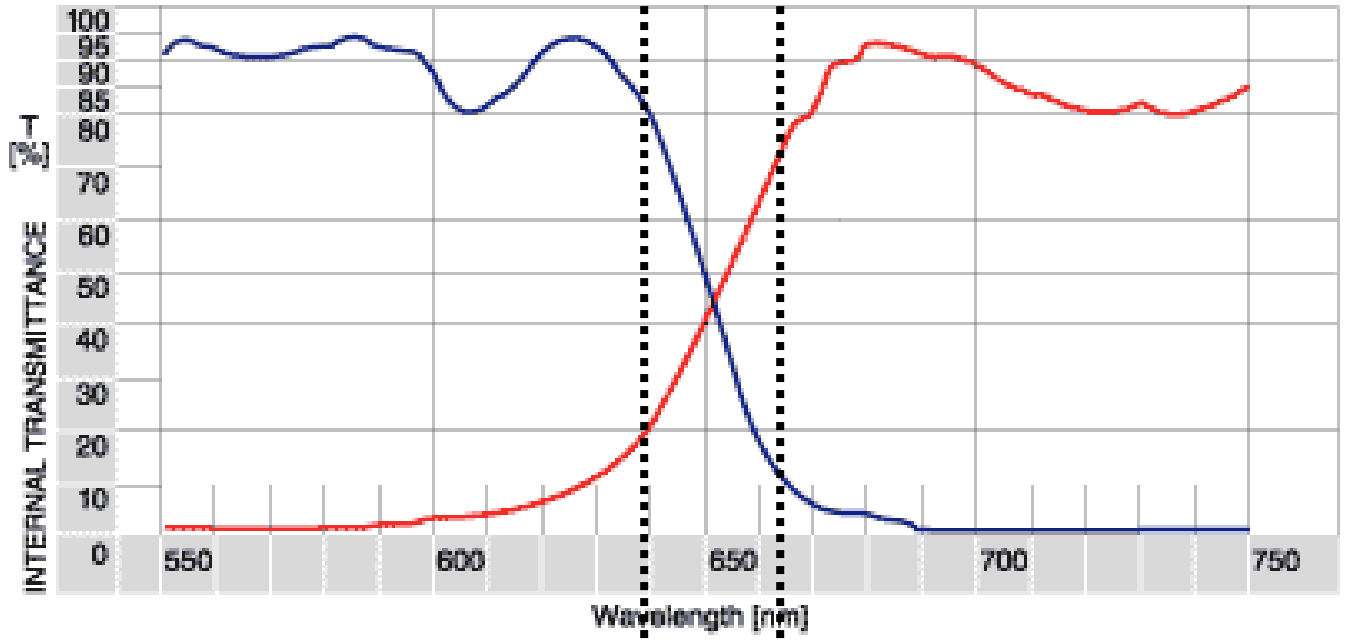
Fotomultiplicadores

3. Sistema Óptico: Filtros

Trasmiten **determinados rangos λ y** ***absorben*** **o** ***reflejan*** **otros, de manera tal que a los fotodetectores lleguen haces de luz "oligo-cromáticos"**



3. Sistema Óptico: Filtros

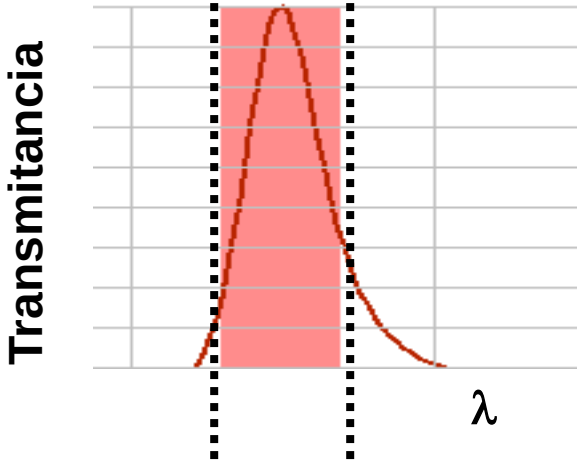


Long Pass

dejan pasar longitudes de onda largas

Short Pass

dejan pasar longitudes de onda cortas

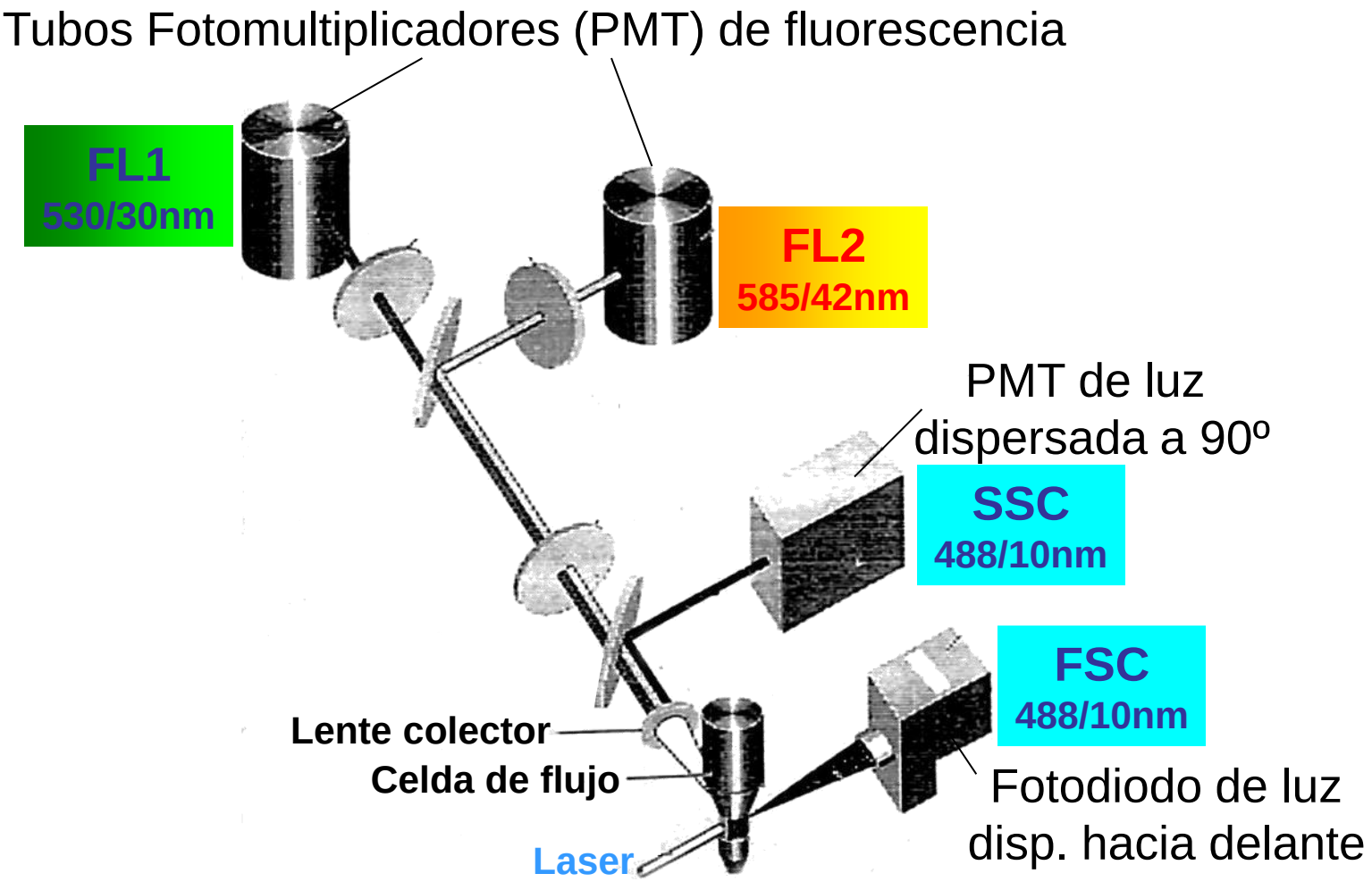


Filtros Band Pass

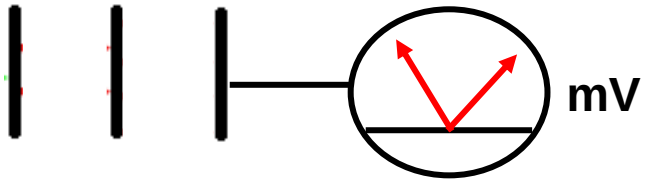
Dejan pasar frecuencias dentro de un cierto rango reflejan las no deseadas. Se ubican delante de los fotomultiplicadores (PMT).

3. Sistema Óptico: Detectores

Los *detectores* colectan la información lumínica filtrada y conducida por los filtros y la transforman en señales electricas.



3. Sistema Óptico: Detectores



Material Fotoeléctrico

- **Fotodiodos:** Detectan señales fuertes (**FSC**: luz dispersada hacia adelante)
- **Fotomultiplicadores (PMT):** Para señales débiles (**SSC:** luz dispersada a 90º y **FL-x**: fluorescencias)

Los PMT pueden amplificar una señal billones de veces:

$$1h\upsilon \equiv 10^{13}\ e^-$$

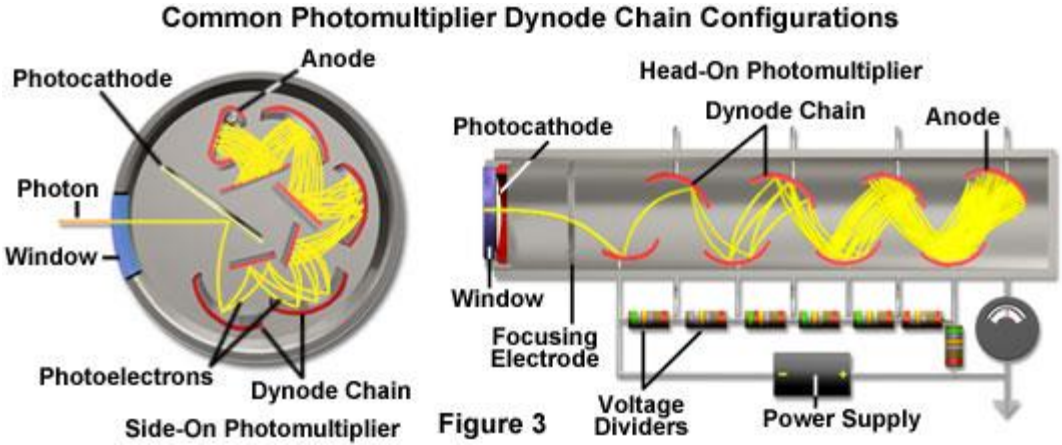
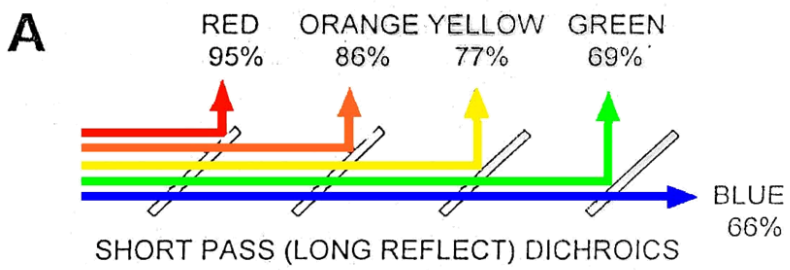
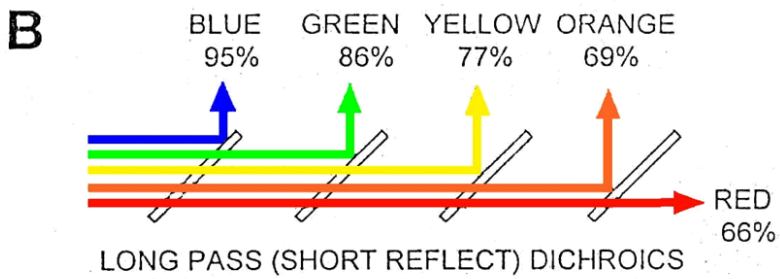


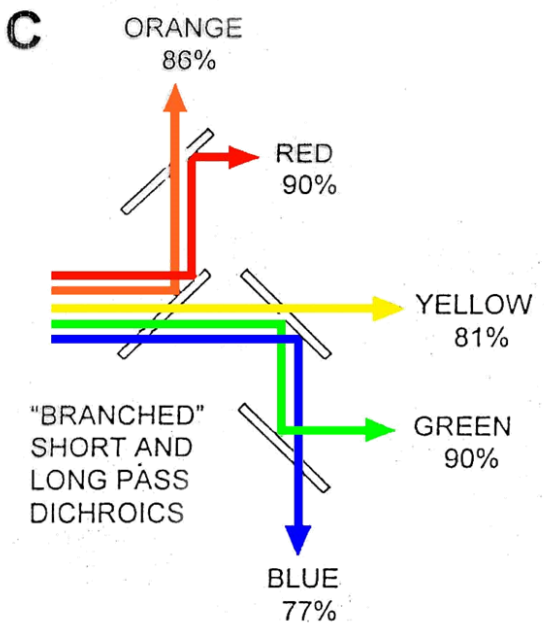
Figure 3

3. Sistema Óptico: Configuración del intrumental

De acuerdo a la configuración de los filtros, el porcentaje de recuperación de cada señal varía:





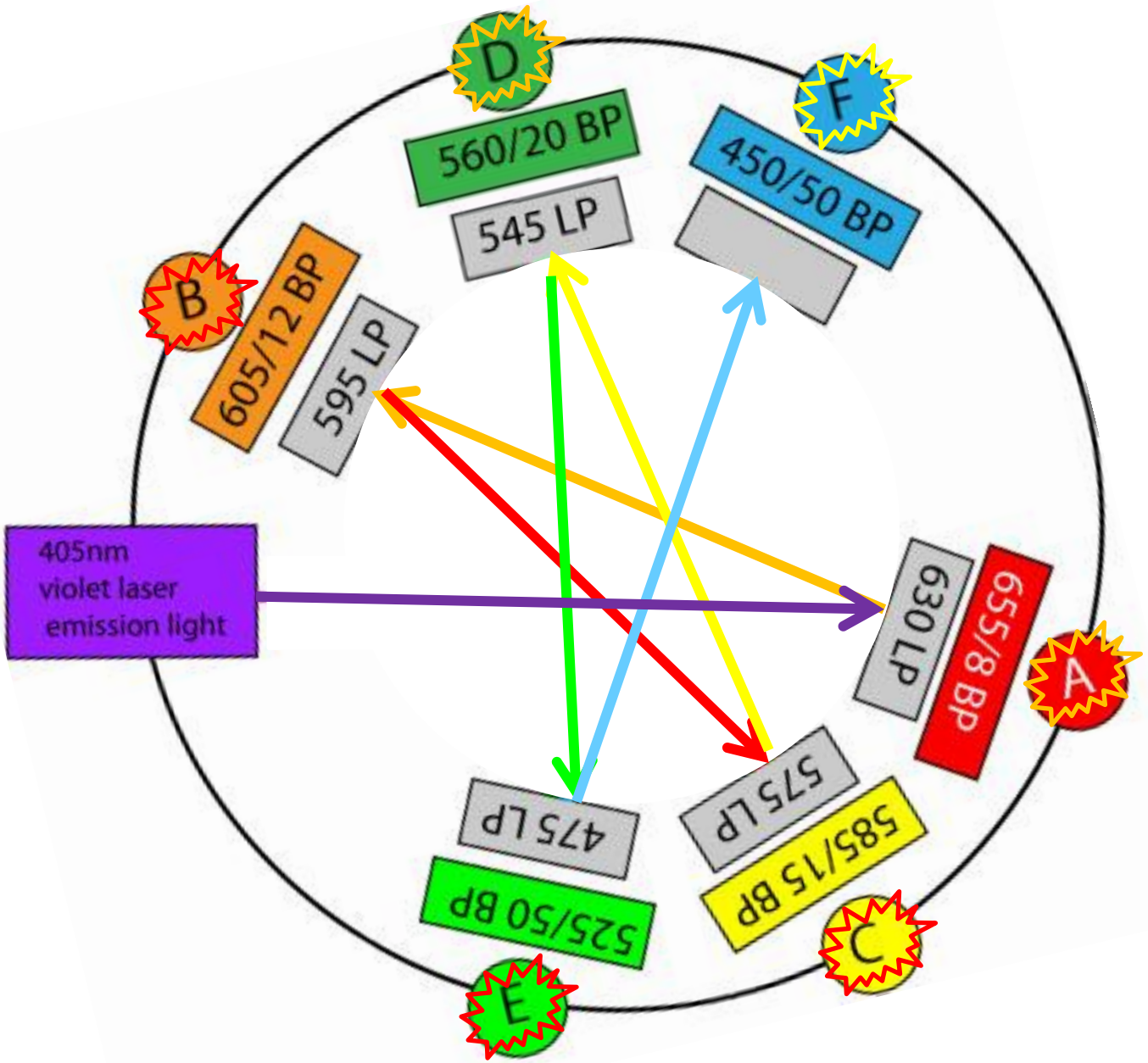


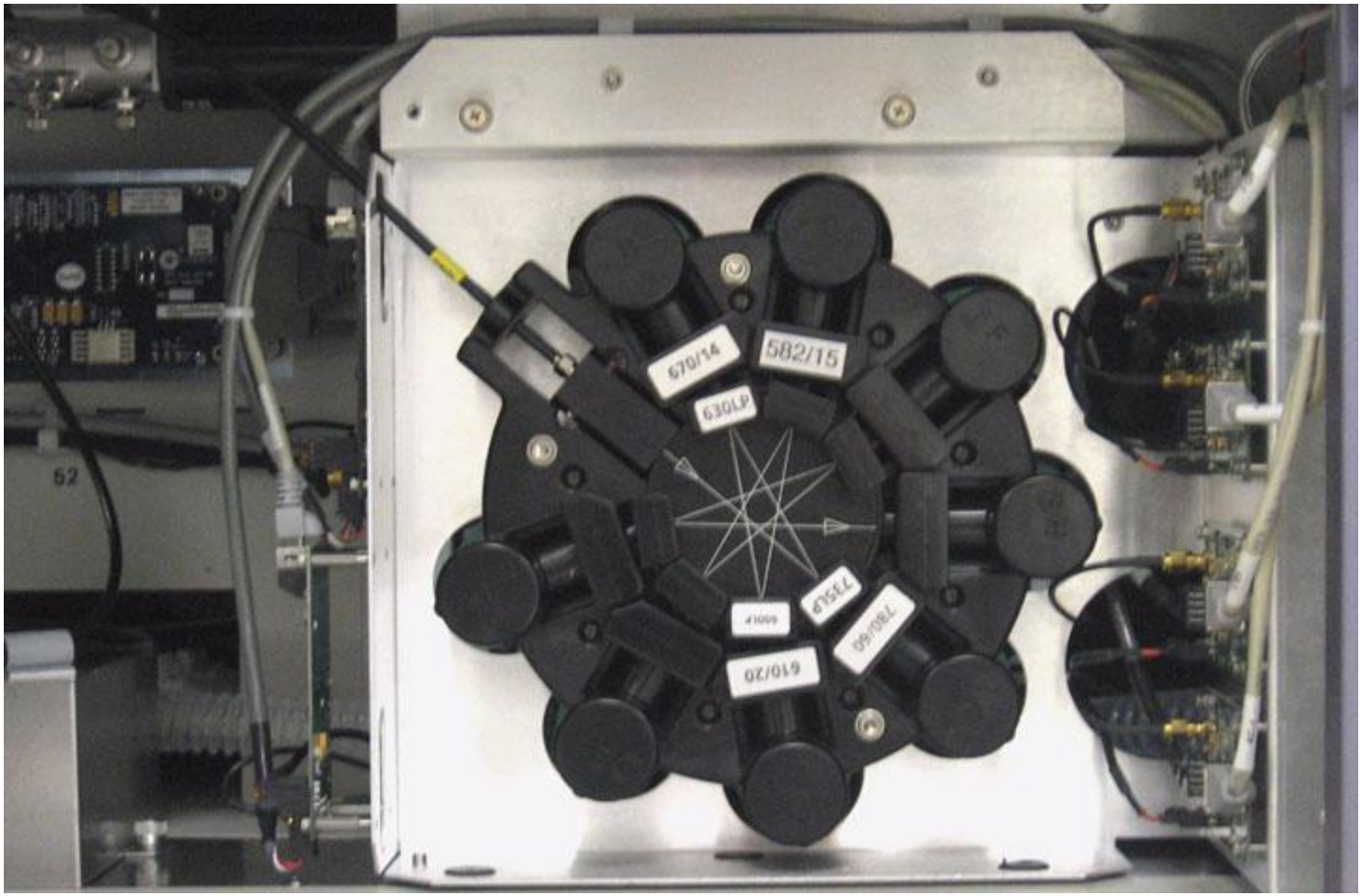
La luz azul (SSC), verde (FL1) y amarilla (FL2) tienen mayor energía que las naranja (FL4) y roja (FL3). Se busca diseñar la óptica de los equipos de manera de detectar con mayor intensidad las señales más débiles.

Los equipos tienen la configuración elegida por el fabricante. El usuario normalmente no puede modificarla.

Configuración Poligonal del intrumental óptico

Economía
de espacio





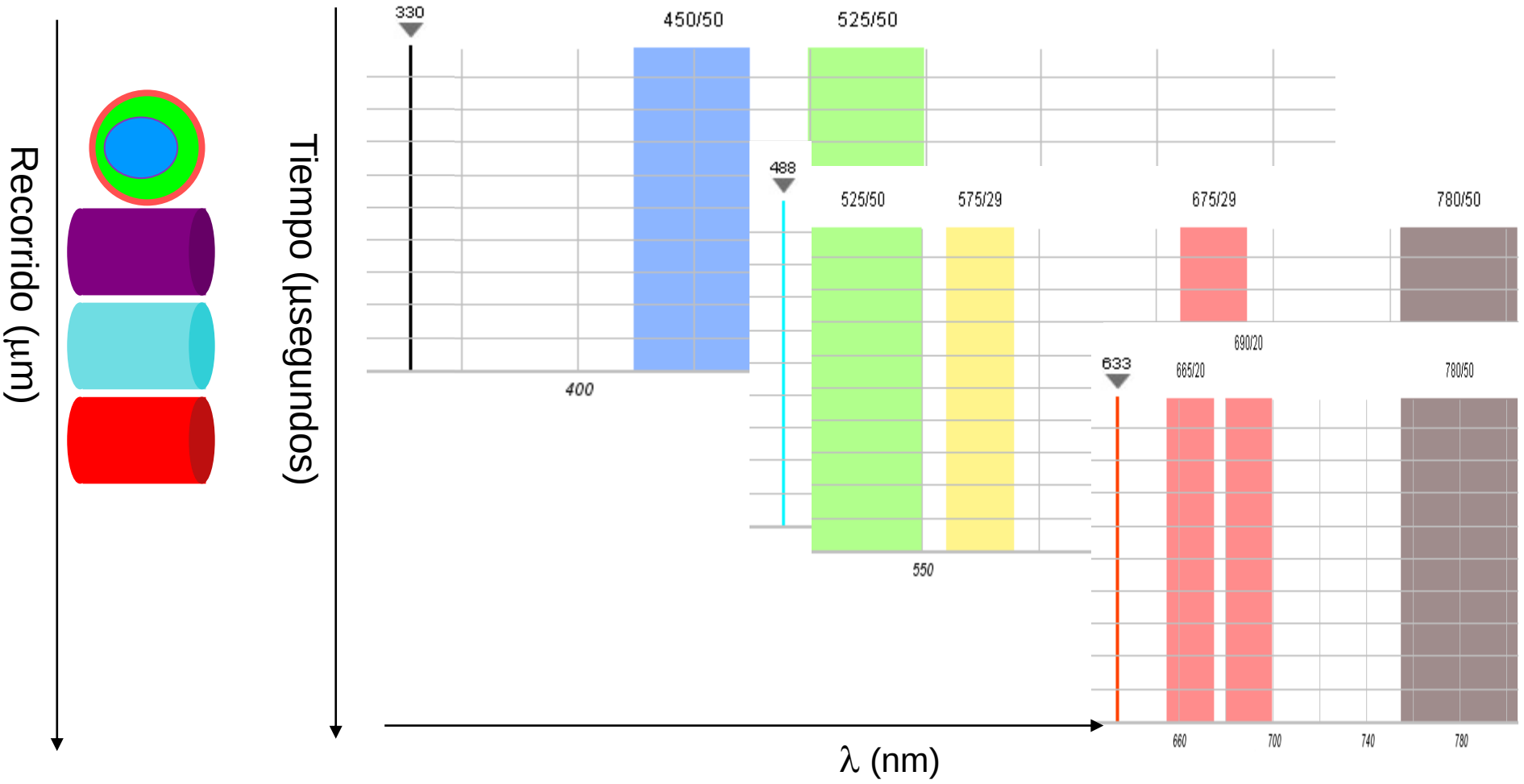
30/6/2020 6:26 p. m.

Innovación tecnológica III:

Cambios* en la "configuración óptica"

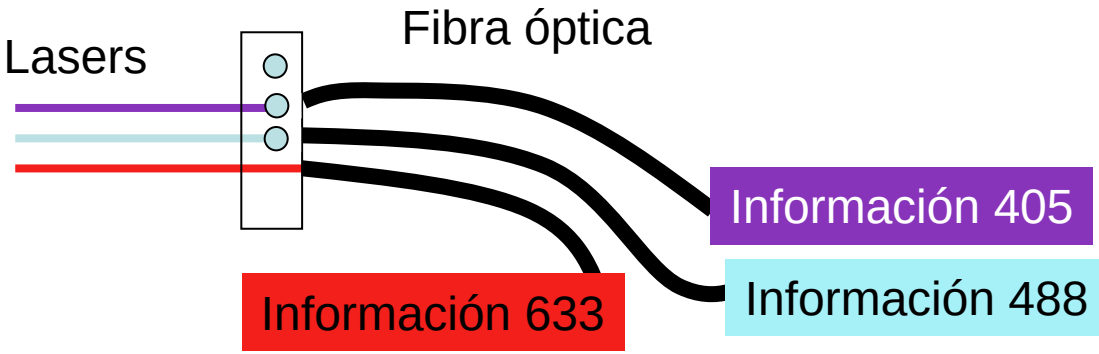
Los lasers iluminan secuencialmente la célula mientras pasa por la celda flujo.

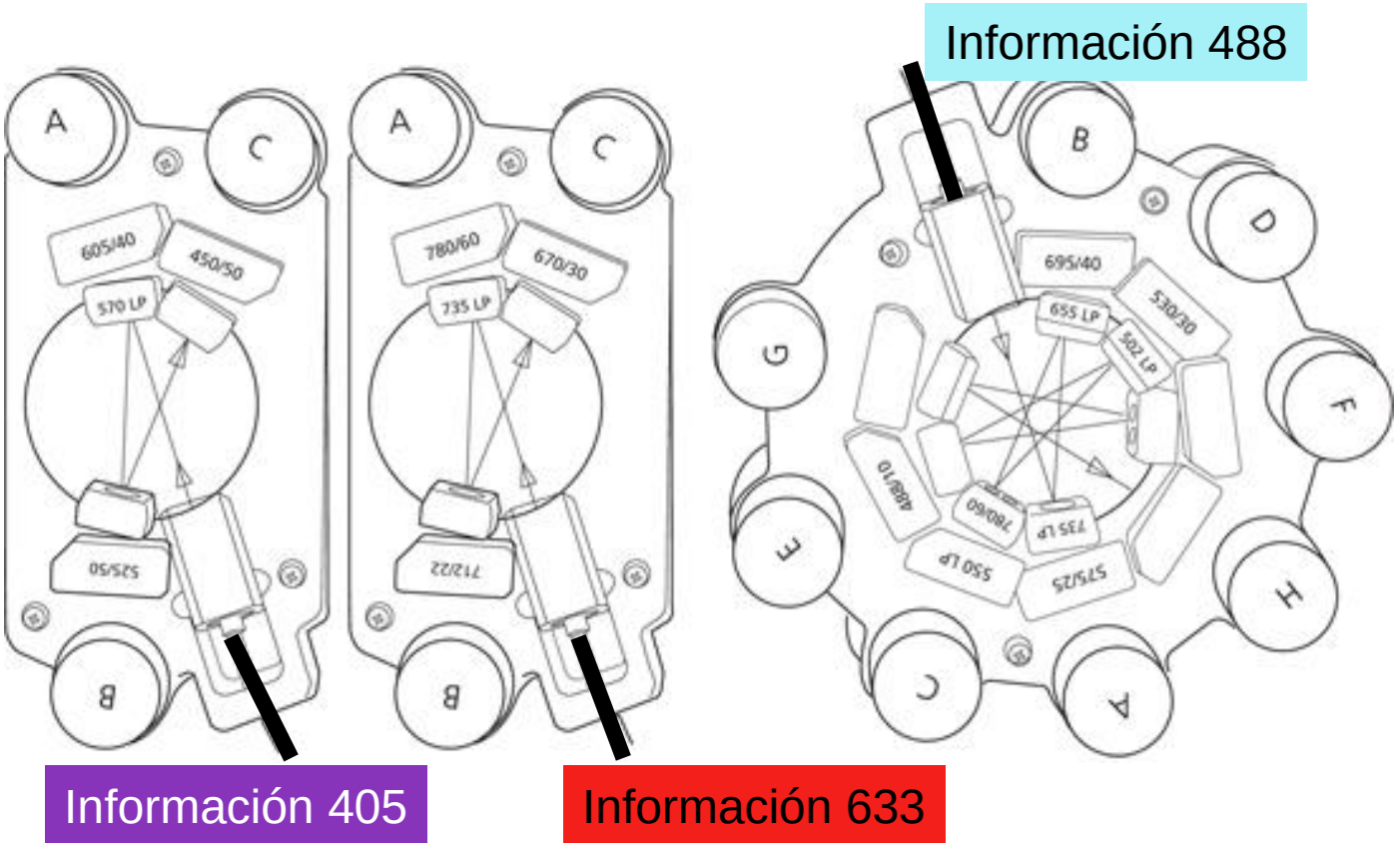
Este desfasaje espacio-temporal permite la superposición espectral entre detectores y fluorocromos exitados por diferentes lasers



*__Posible gracias a__: Fibra óptica, lentes de nuevos materiales y mayor poder computacional

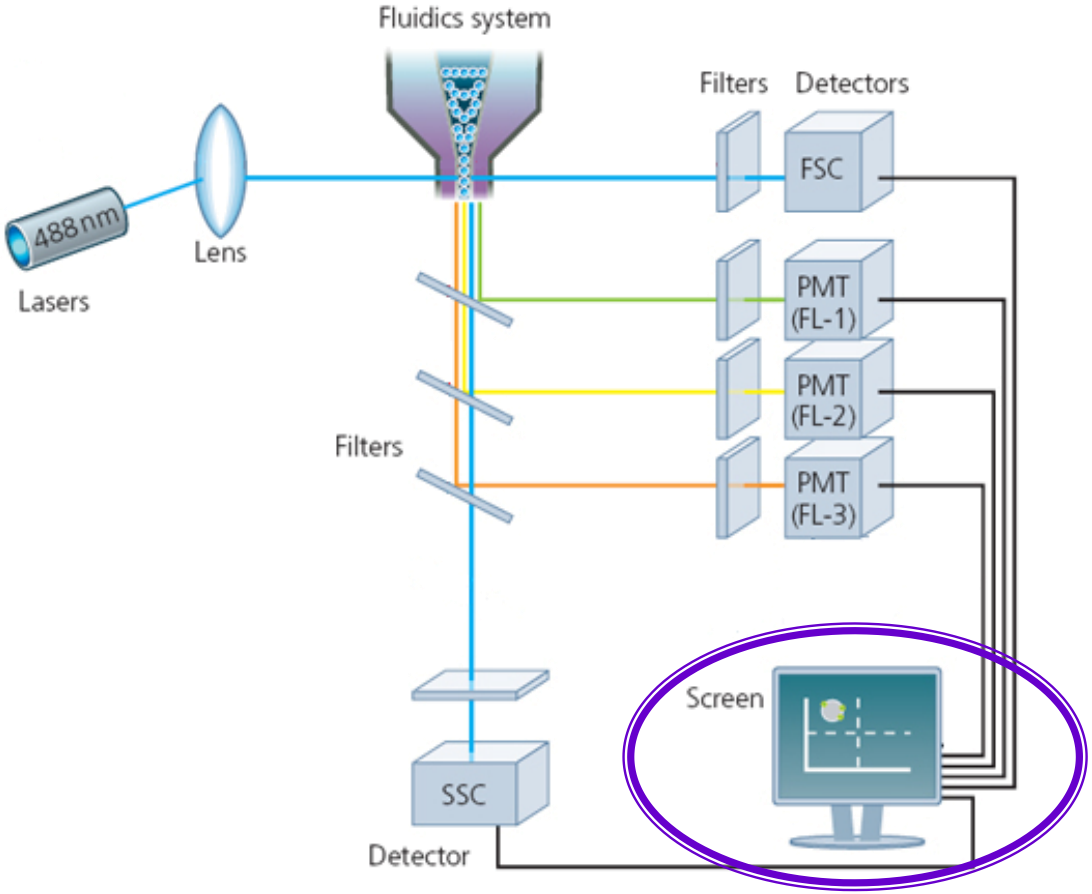
Las **emisiones** (**informacion**) de cada laser viajan separadas vía **fibra óptica** hasta sus respectivos detectores posibilitando **superposición espectral.**





30/6/2020 6:29 p. m.

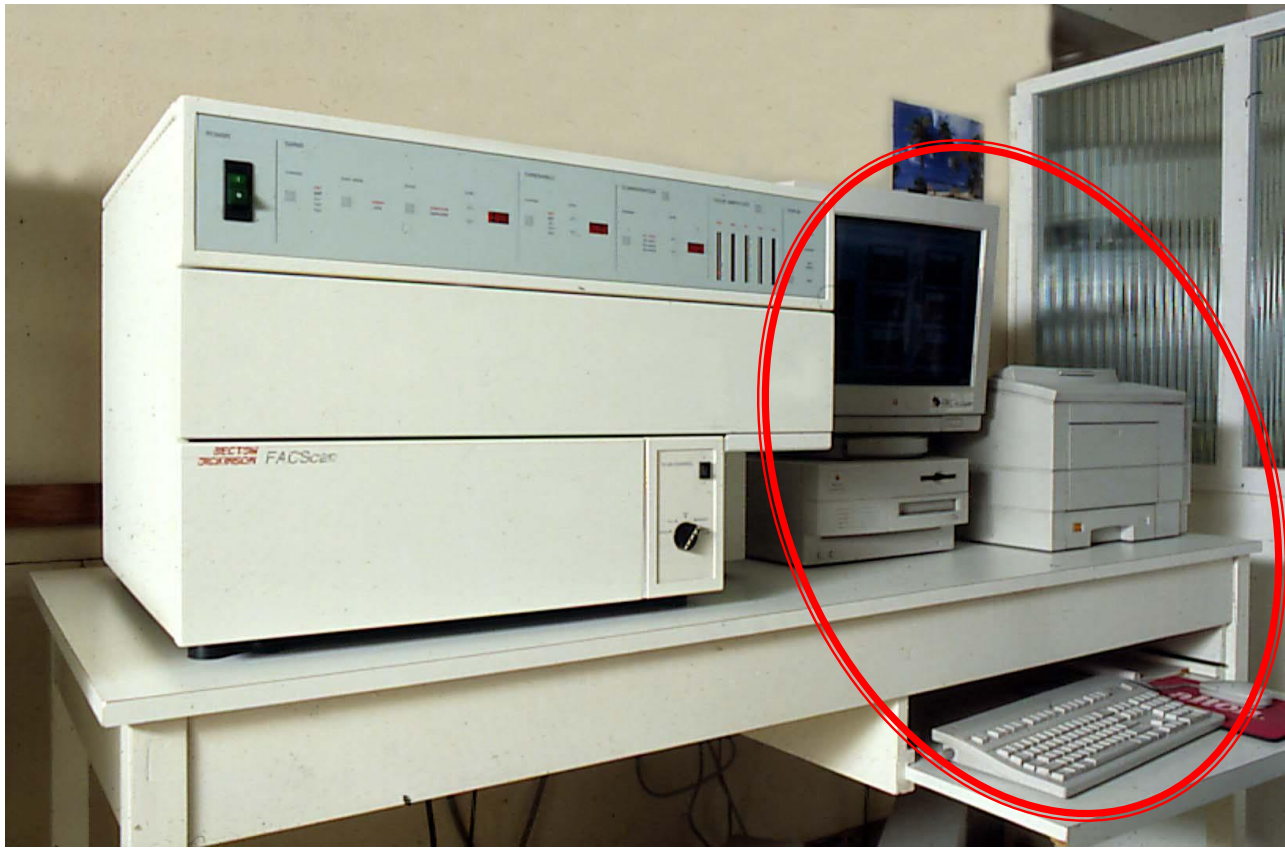
Sistemas que componen el Citómetro



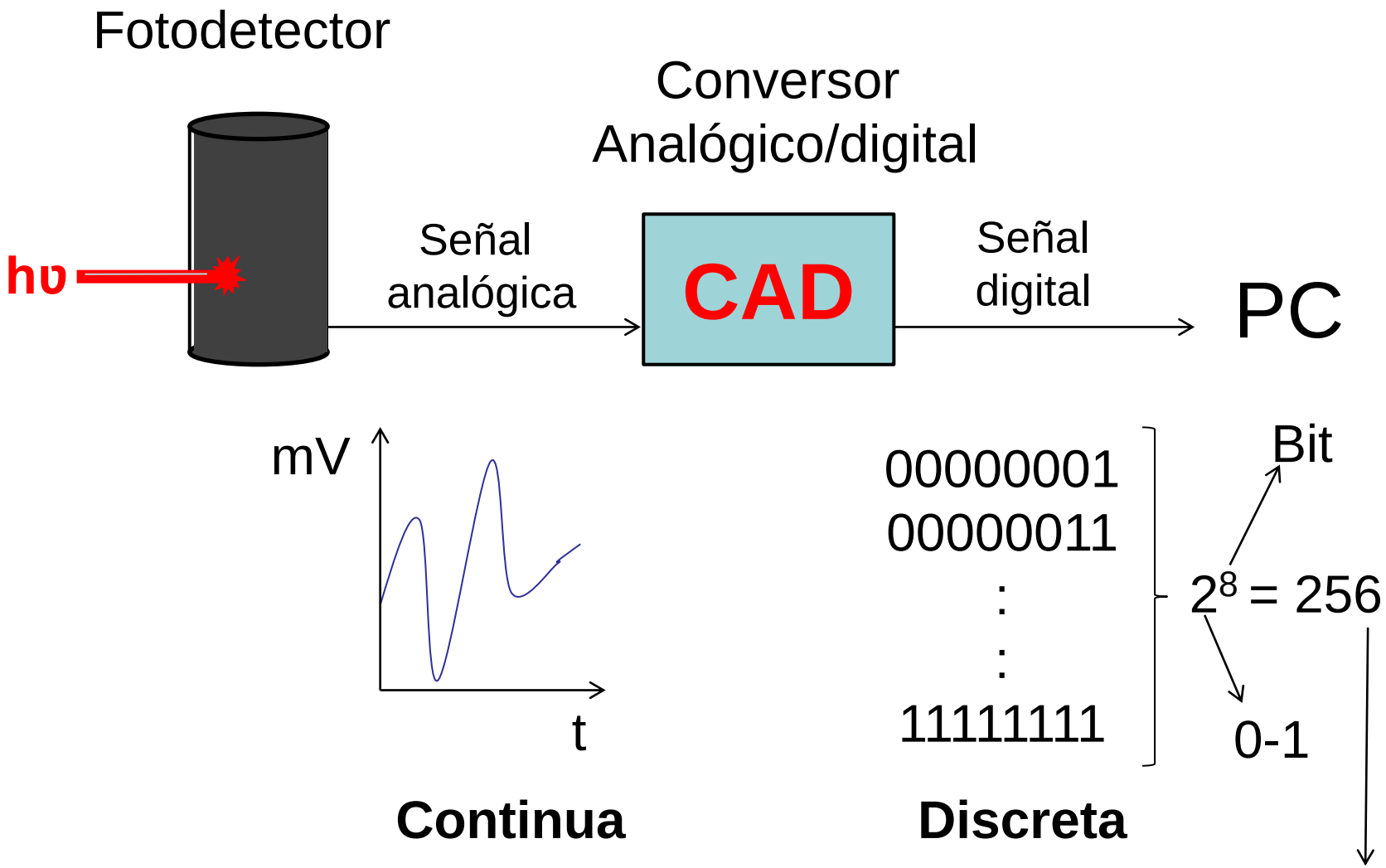
4.Sistema Informático de adquisición y análisis de datos

FACScan: Fluorescence Activated Cell Scanning

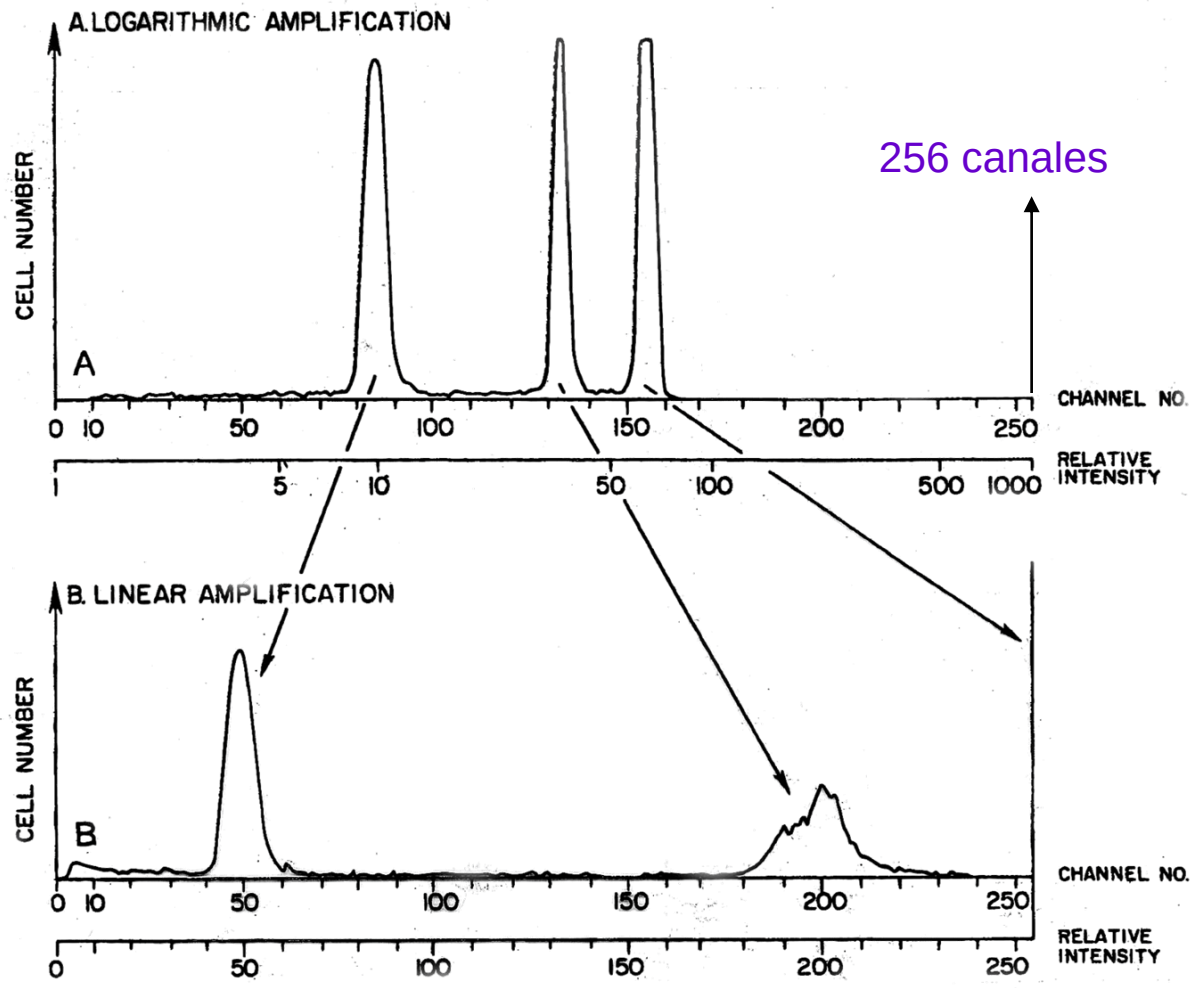
Evalúa 7 parámetros y T:
P1=FSC-tamaño
P2=SSC-complejidad
Tres fluorescencias
P3=FL1 Filtro Band pass= 530
P4=FL2 Filtro Band pass=585
P5=FL3 Filtro Long pass= 650
Además se puede evaluar
P6=FLX-W (ancho de tiempo de vuelo)
P7= FLX-A (área del tiempo de vuelo)
T= tiempo



1 célula (evento) = hasta 8 datos
1000 eventos/seg= 8000 datos/seg => **125µseg/dato**
Requerimiento mínimo del procesador: 125MHz


Fotodetector
Conversor
Analógico/digital
hυ
Señal
analógica
CAD
Señal
digital
PC
mV
t
Continua
00000001
00000011
:
:
11111111
Bit
$2^8 = 256$
0-1
Discreta
Canales
2^{10}=1024
2^{16}=65516

Durante la *Adquisición*, la información puede almacenarse en modo logarítmico o lineal:



*El valor que sale de la **amplificación logarítmica** es proporcional al logaritmo de la señal que entró desde el fotodetector*

*El valor que sale de la **amplificación lineal** es directamente proporcional a la señal que entró desde el fotodetector*

FSC y SSC…

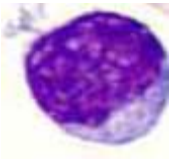
¿Qué modo de Adquisición elegir, logarítmico o lineal?

Caso 1: Partículas con Simetría esférica

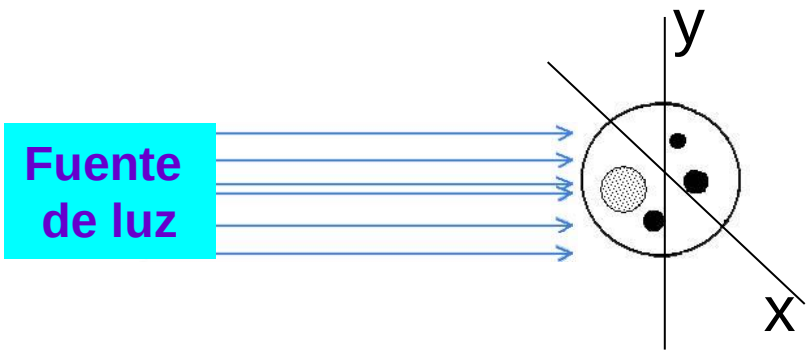
Beads

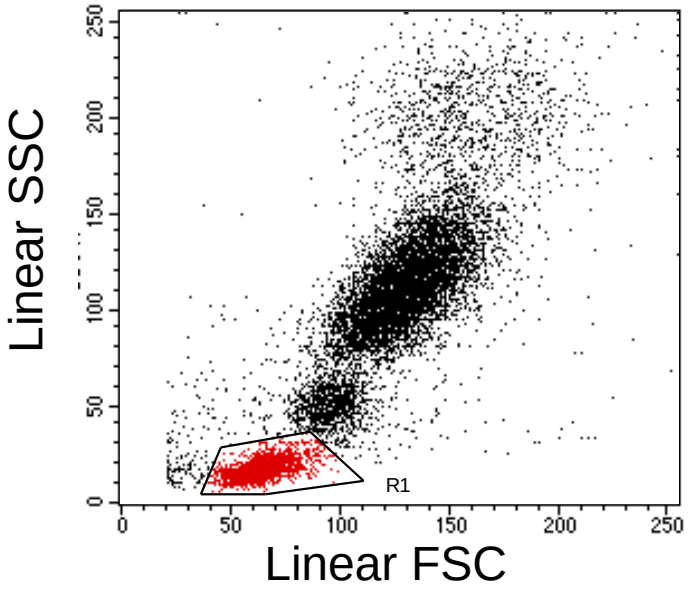
Mo

PMN



Ly

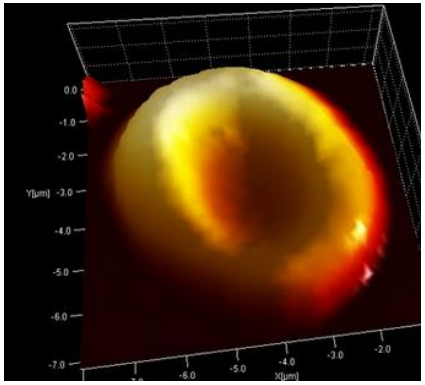




Dispersión de la Luz:
"*Light Scattering*" no varia con orientación de la partícula, solo del tamaño y complejidad

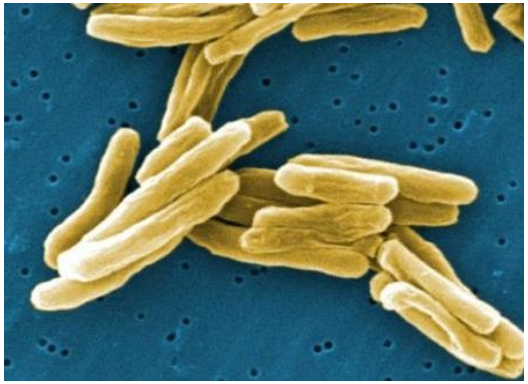
¿Qué modo de Adquisición elegir, logarítmico o lineal?

Caso 2: Partículas **No** Esféricas

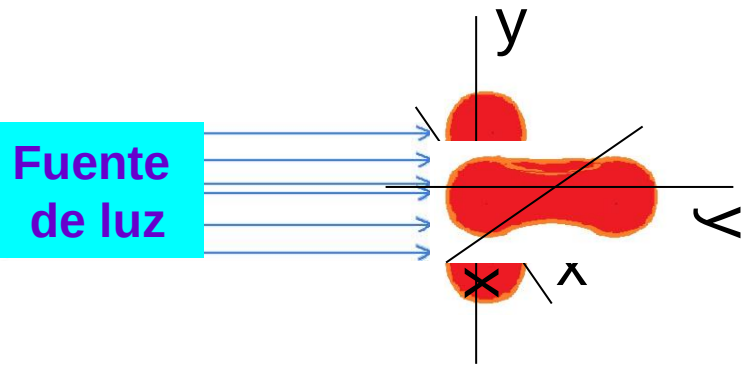


RBC

Plaquetas

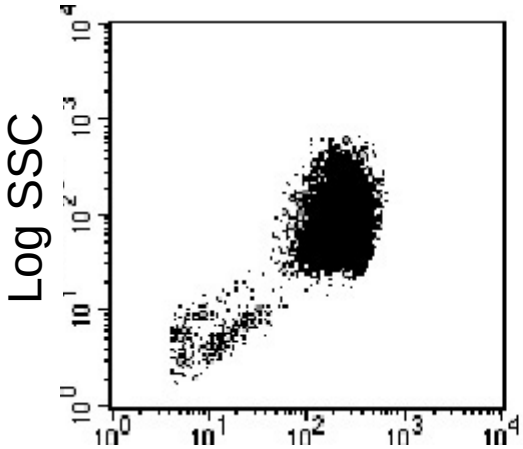


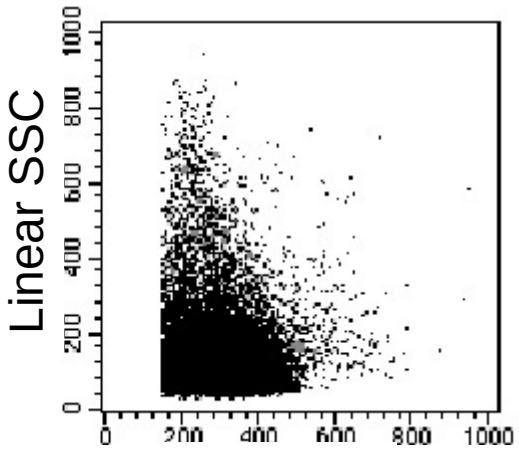
M.tuberculosis



"*Light Scattering*" varia con orientación

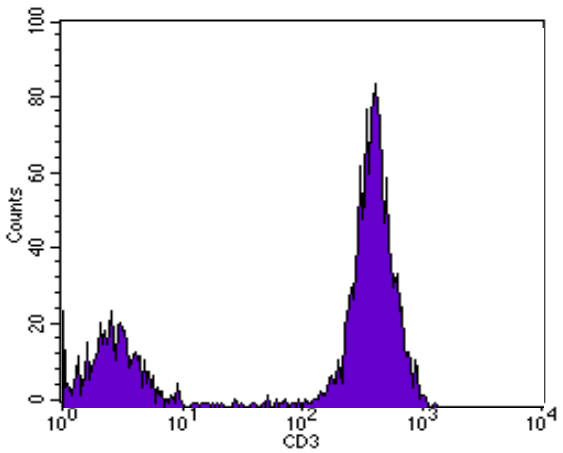
↑CV intrapoblacional





Fluorescencias…

¿Qué modo de Adquisición elegir, logarítmico o lineal?

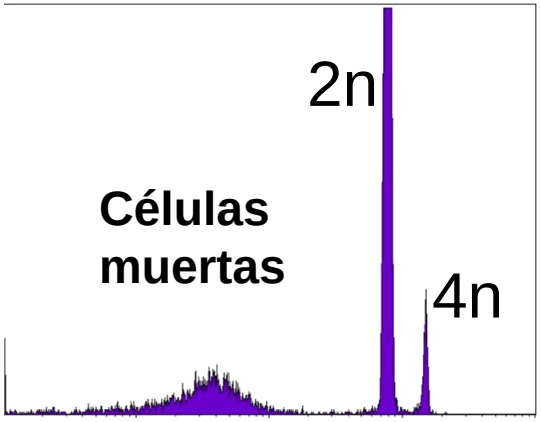


Log FL-1

Modo Log

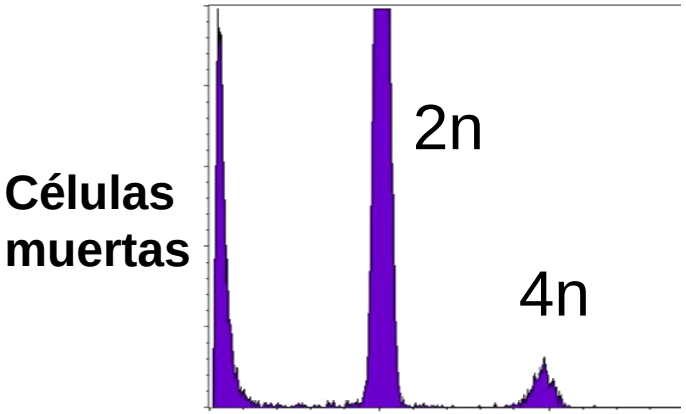
↓

Variación entre Min y Max es de varios cientos o miles



Log FL-3

Contenido ADN



Linear FL-3

Modo Linear

↓

Relación lineal entre las MFI de ≠ poblaciones

Fundamentos básicos de la Citometría de Flujo. Fluorocromos.

Historia y funcionamiento básico del citómetro

Sistemas que componen el equipo

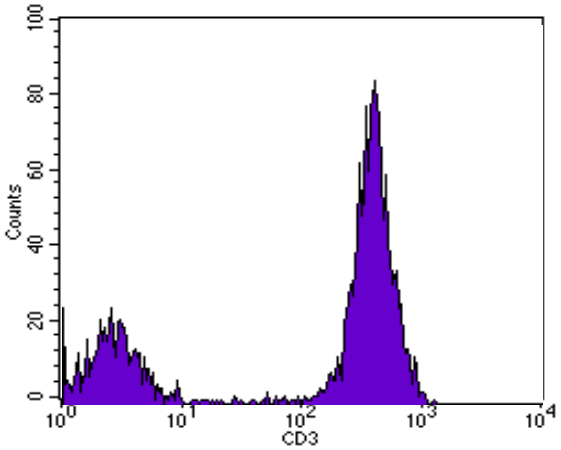
Análisis y Representación gráfica de datos

Flow sorting

Fluorocromos en citometría de flujo

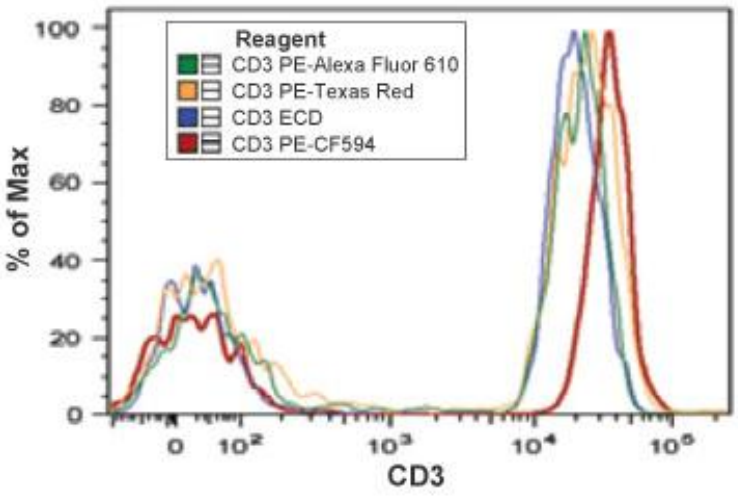
Representación gráfica de los Datos:

Gráficos de 2 dimensiones

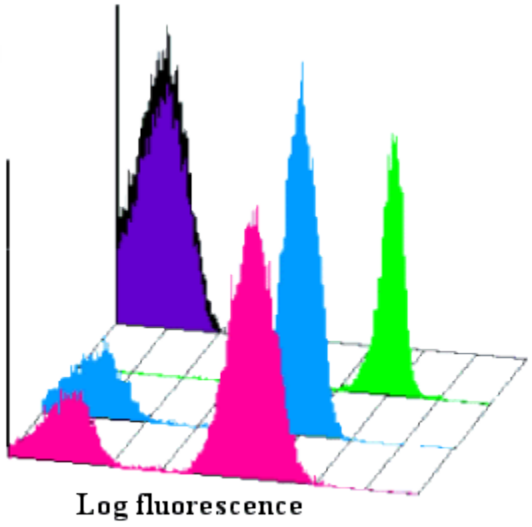


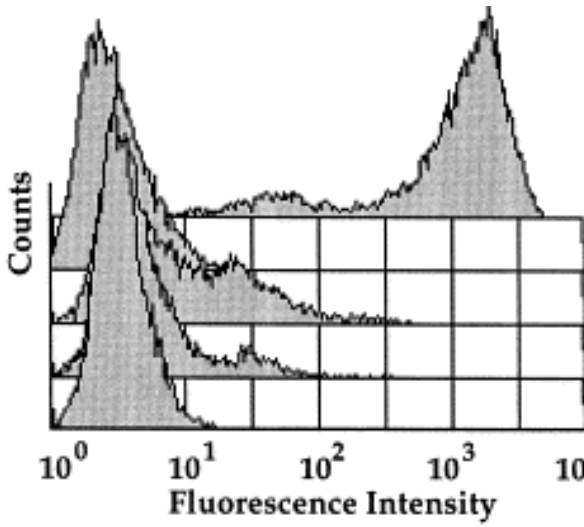
Histograma: 1 parámetro (x)
+frecuencia (y)

"Overlay":



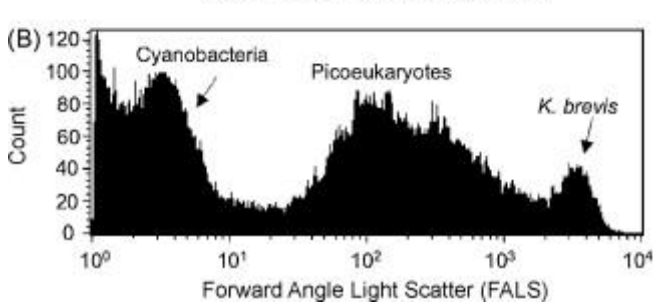
"Overlay 3D":





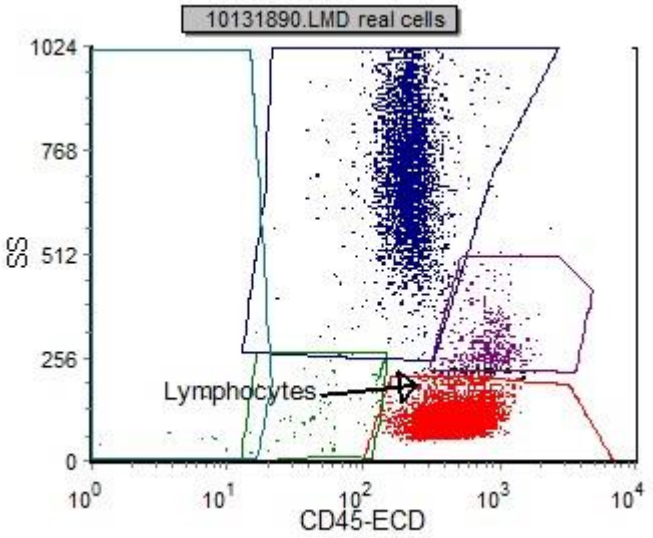
Representación gráfica de los Datos:

Gráficos de 2 dimensiones



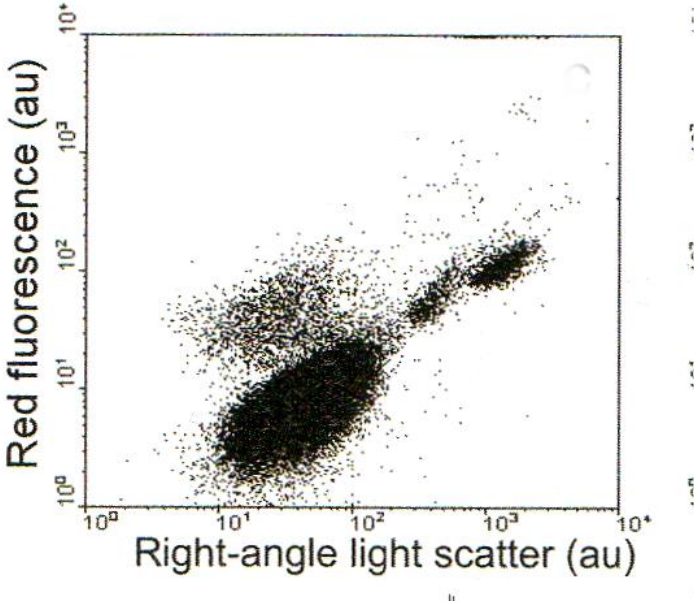
Dot plot: 1 parámetro (X)
vs 1 parámetro (Y)

Color Dot plot:



Representación gráfica de los Datos:

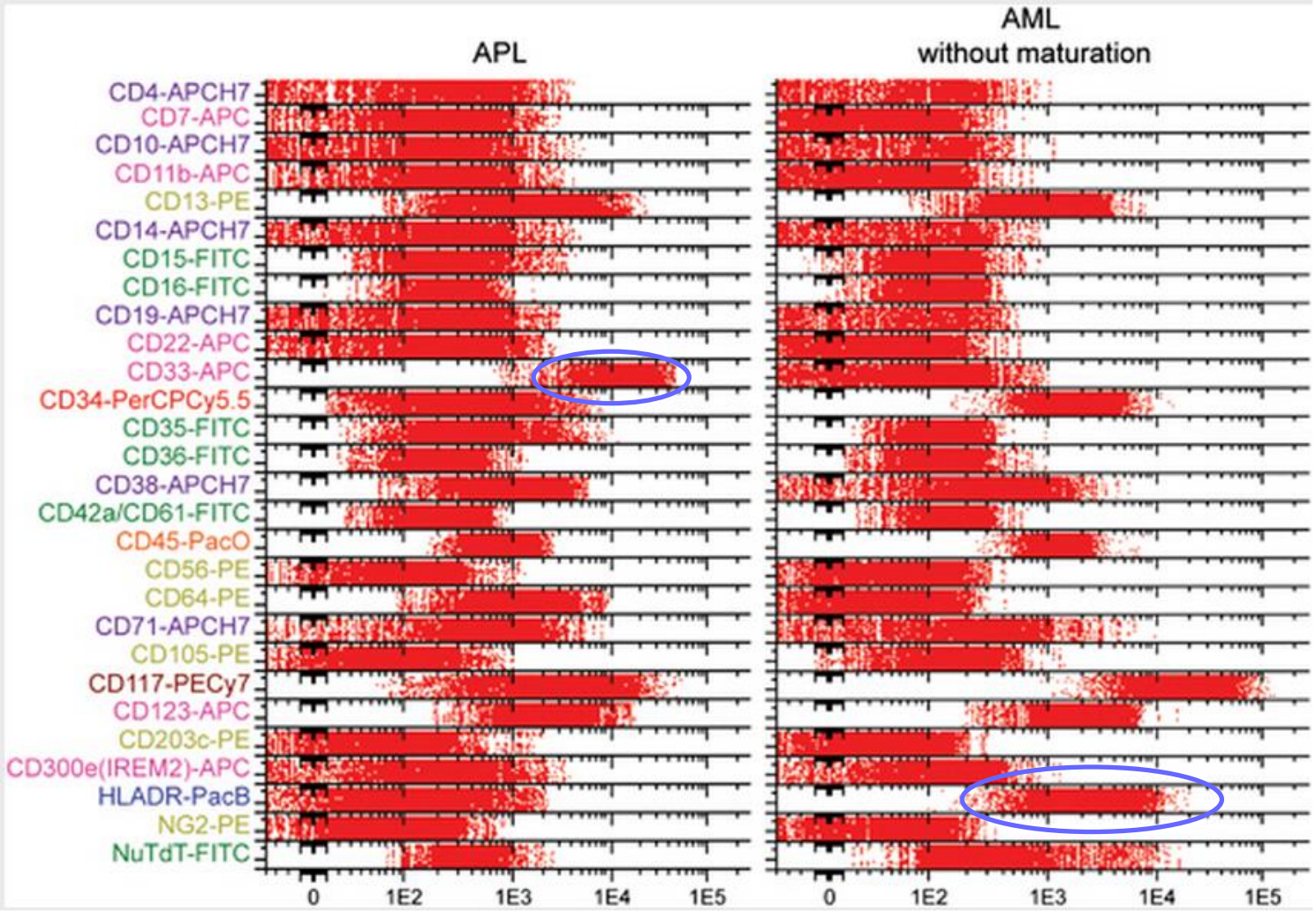
Gráficos de 2 dimensiones



Representación gráfica de los Datos:

Gráficos de 2 dimensiones

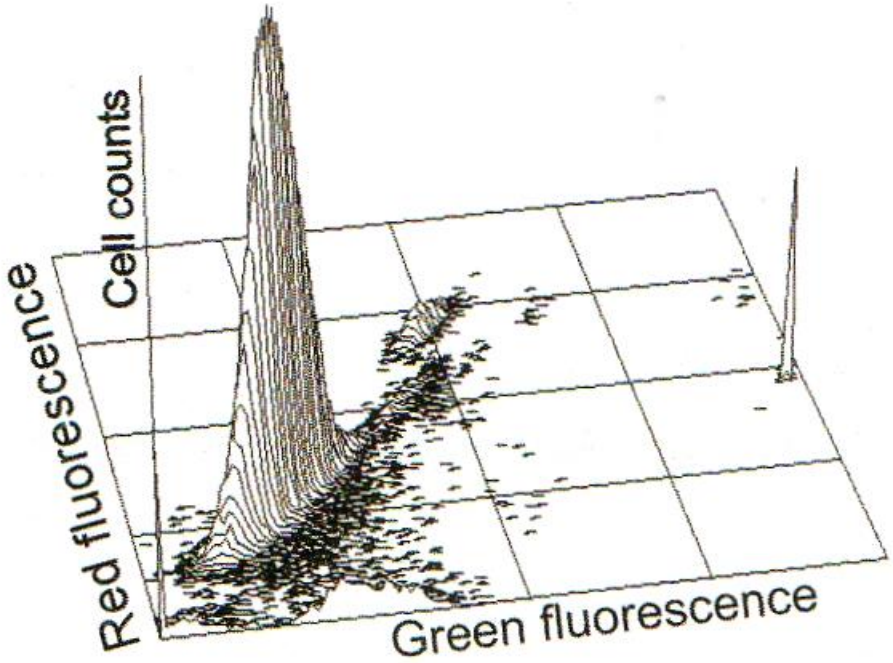
Band-plot : FSC vs FL-x

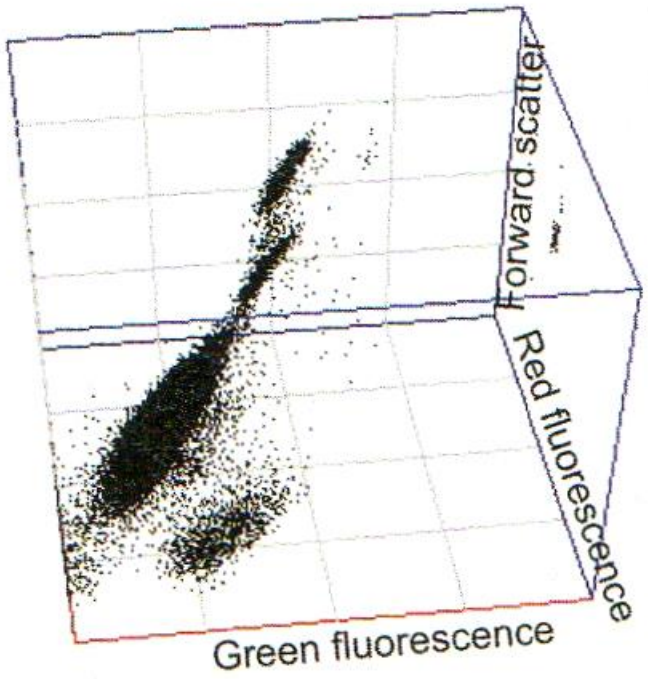


Representación gráfica de los Datos:

Gráficos de 3 dimensiones

2 parámetros+frecuencia

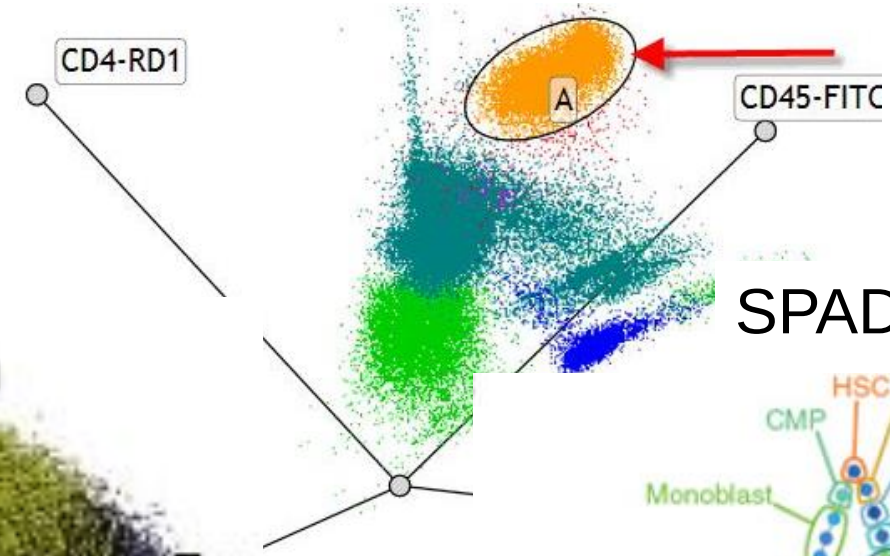




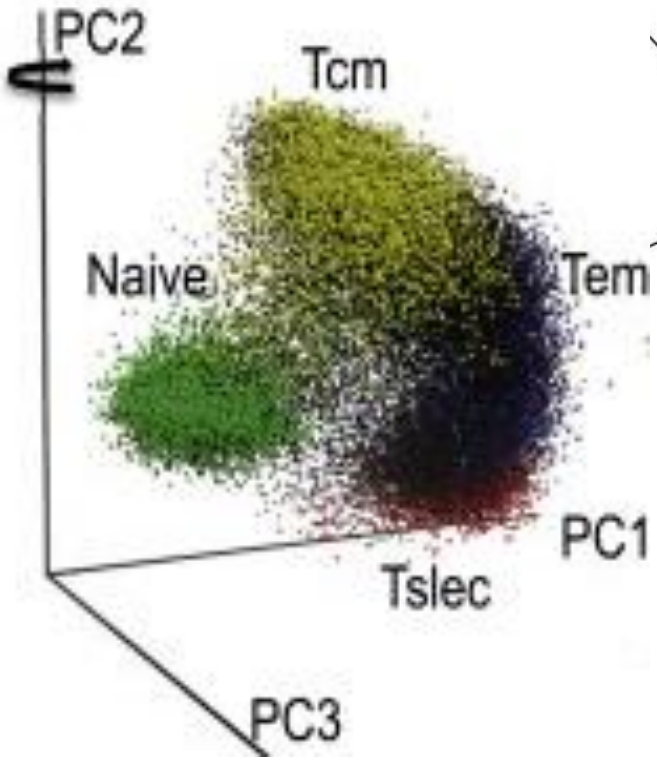
3 parámetros

Representación gráfica de los Datos:

Multidimensiones (+de 3D)

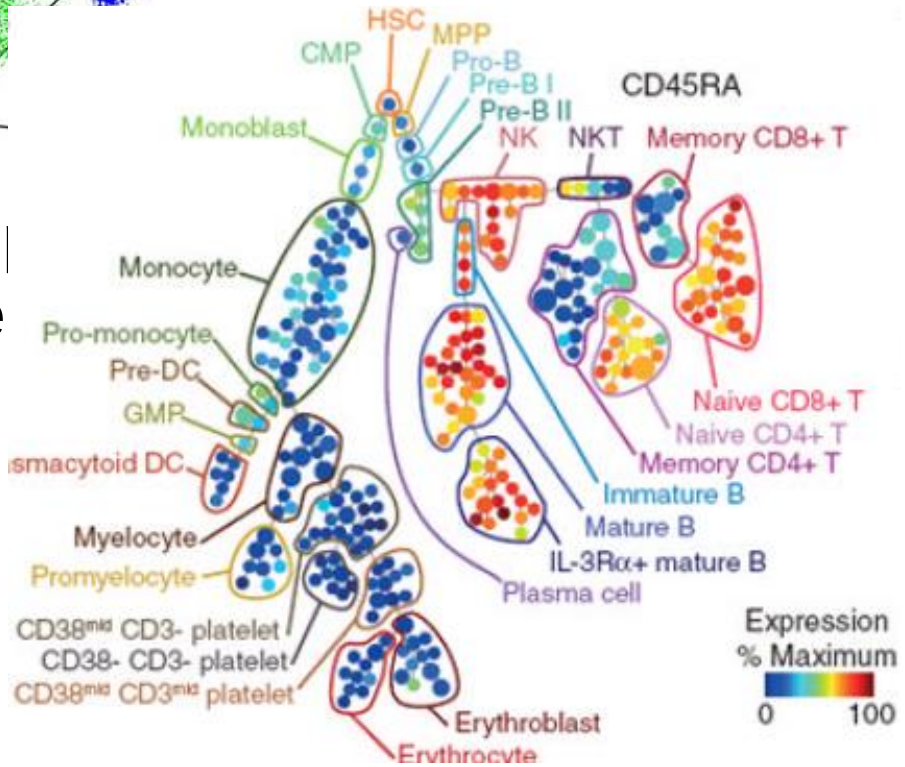


SPADE tree plots (2D)



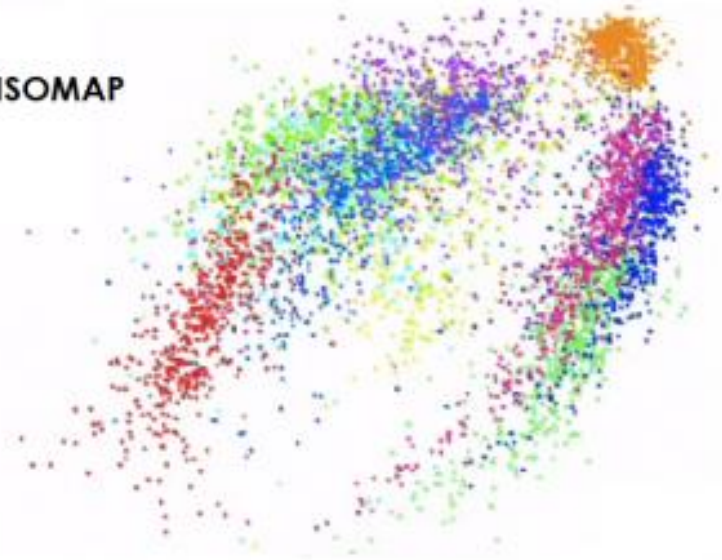
Componentes Principales (3D)

Radar
n-dime

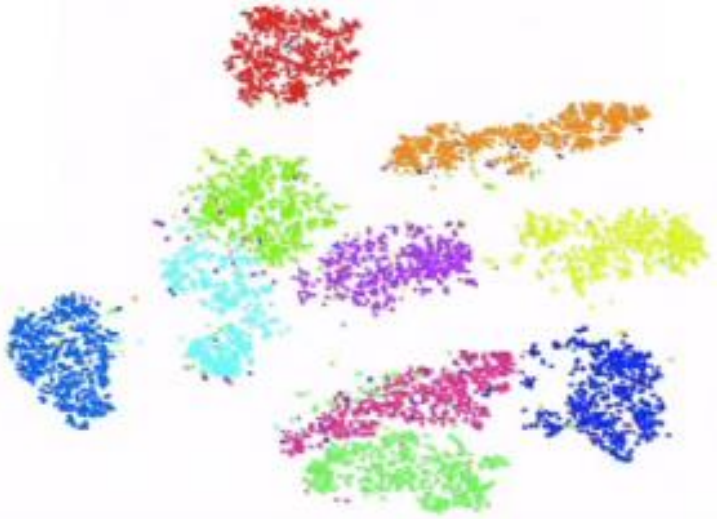


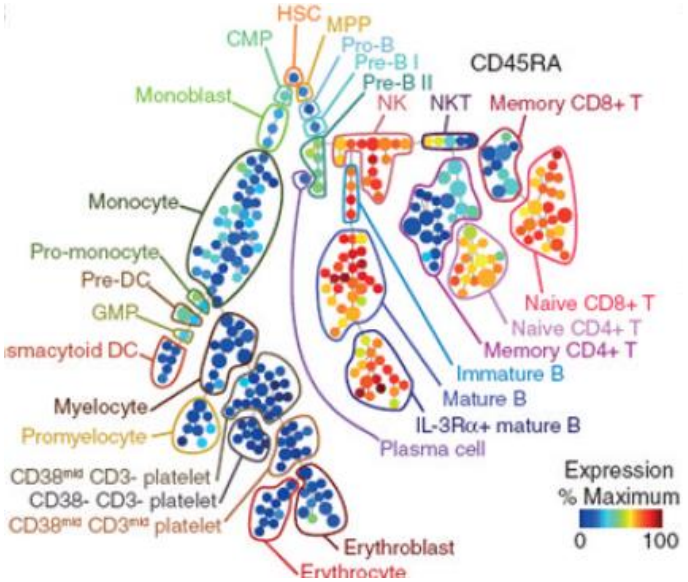
PCA

ISOMAP



T-SNE





30/6/2020 7:31 p. m.

Fundamentos básicos de la Citometría de Flujo. Fluorocromos.

Historia y funcionamiento básico del citómetro

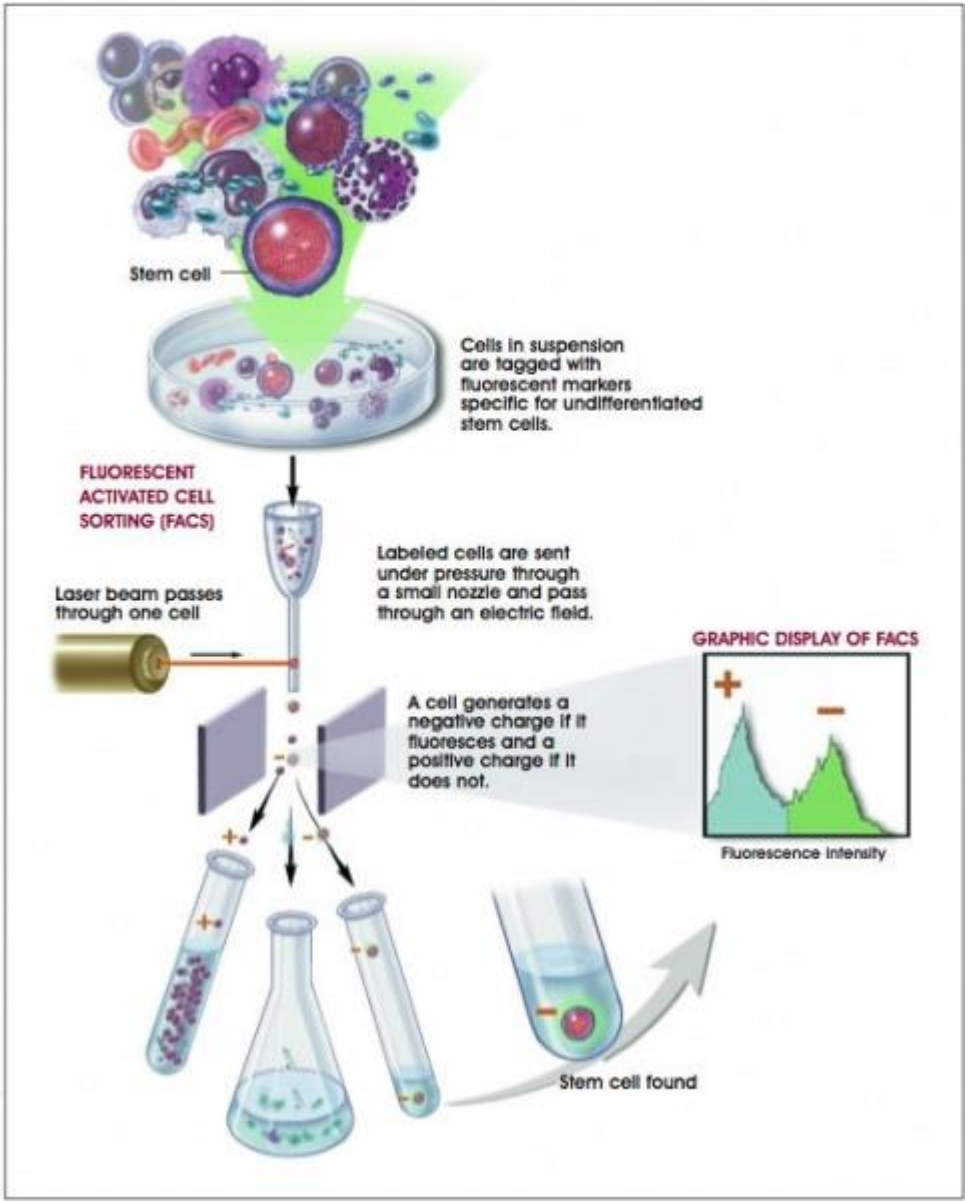
Sistemas que componen el equipo

Representación gráfica de datos y análisis

Flow sorting

Fluorocromos en citometría de flujo

Flow particle sorting:


Stem cell
Cells in suspension are tagged with fluorescent markers specific for undifferentiated stem cells.
FLUORESCENT ACTIVATED CELL SORTING (FACS)
Laser beam passes through one cell
Labeled cells are sent under pressure through a small nozzle and pass through an electric field.
GRAPHIC DISPLAY OF FACS
A cell generates a negative charge if it fluoresces and a positive charge if it does not.
Fluorescence Intensity
Stem cell found

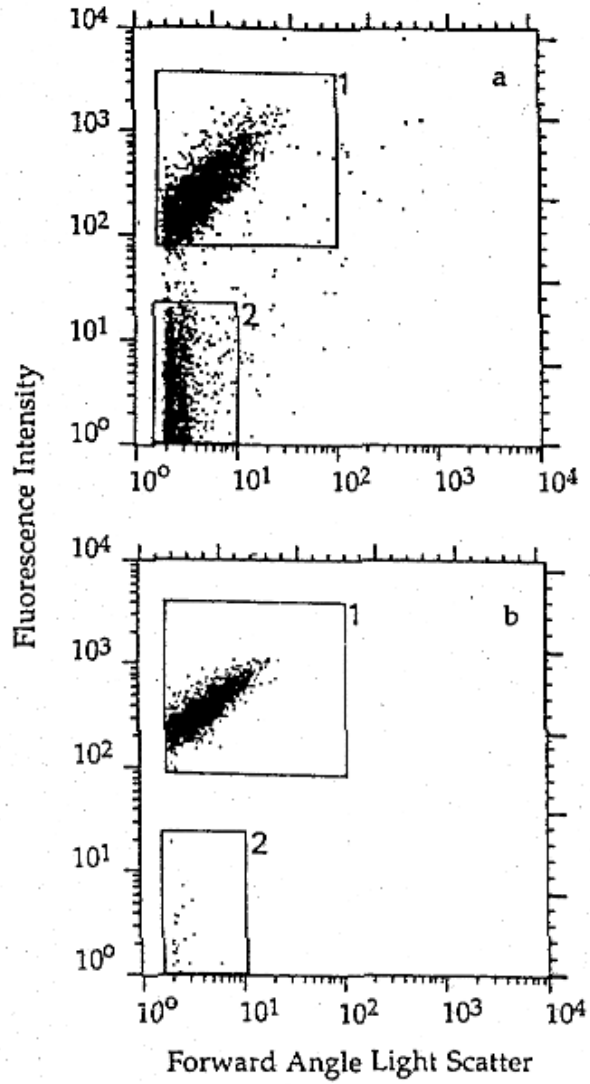
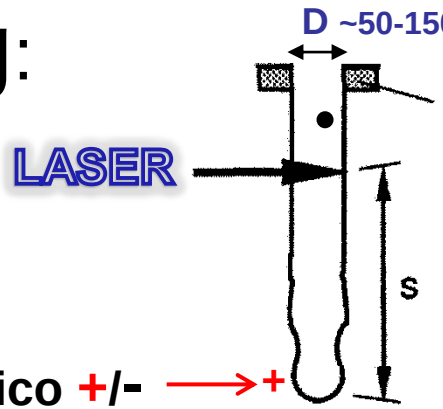


FIG. 2. FCM dot plot of a 50:50 (vol/vol) mixture of cultures of *S. aureus* Cowan 1 and *E. coli* ED8654(pLV1013) in the presence of FITC-labelled human IgG. Box 1 encloses the population of *S. aureus*. Box 2 encloses the population of *E. coli*. These boxes were used as the sorting windows. (a) Before cell sorting. (b) After cell sorting.

Porter et al.1993. Applied and Environmental Microbiology 59: 3327-3333.

Flow particle sorting:



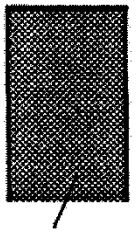
Lectura,
Decisión lógica según criterio
Cálculo del tiempo de recorrido S
...
...

Aplicación de Pulso electrico +/-

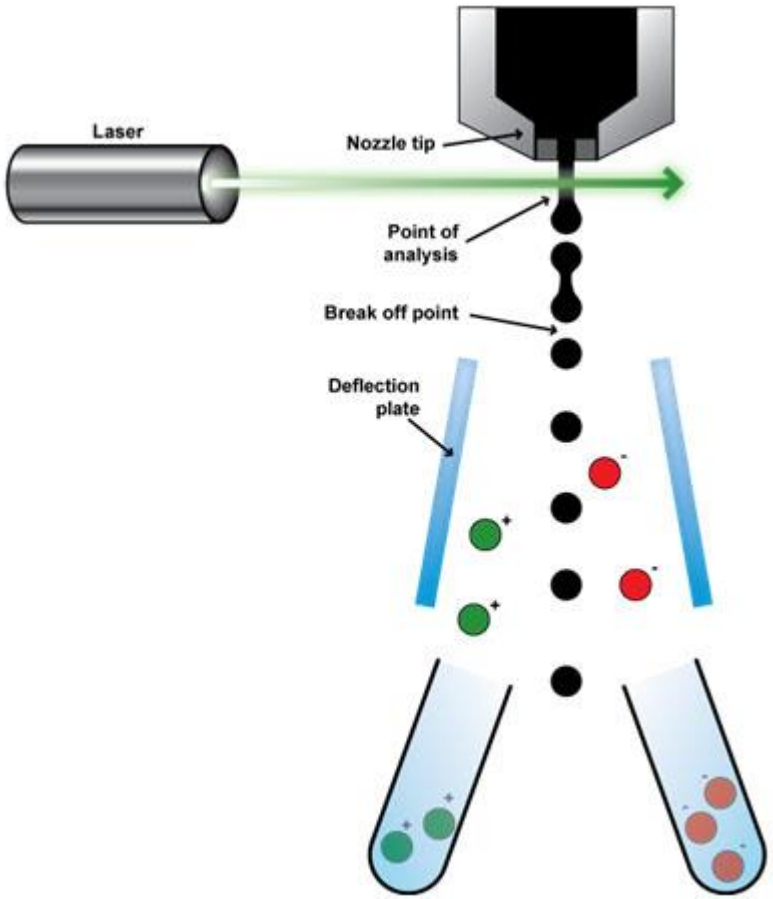
Aplicación de Sonido
(f~10-40kHz)
V/λ =f
4D<λ<8D

Aplicación de un campo eléctrico

Deflección de la gotas cargadas +/-



Flow particle sorting:



Problemas de Aplicación:

- Viabilidad celular
- Tiempo
- Rendimiento
- Pureza
- Esterilidad de la muestra
- Existencia de métodos alternativos (Dyna Beads, MACs)

BD Influx™:

4 lasers, 16 colores

Sorting Aséptico

Mangueras de conducción de fluidos descartables.
Módulo de sorting situado en una cabina de bioseguridad equipada con filtro HEPA.

Sorting Rápido

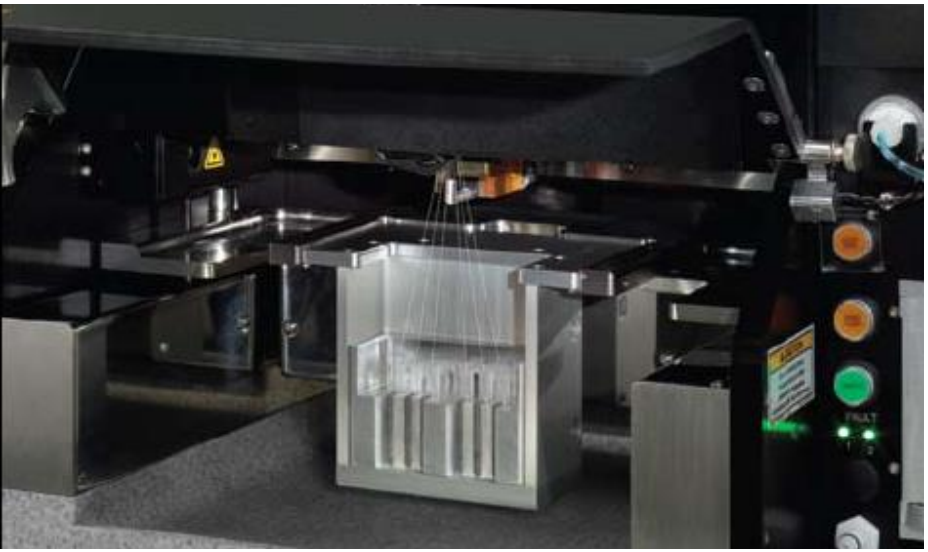
Harware & Software

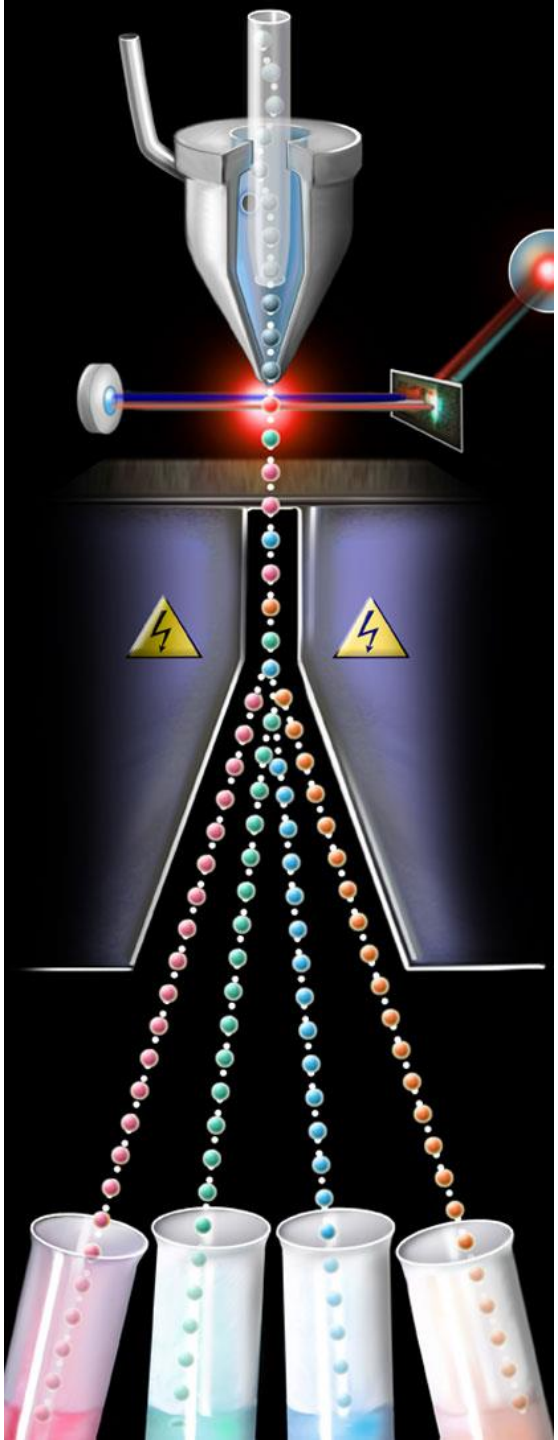
Tanques de Acero Inoxidable

Presurizados, herméticos y autoclavables

Multi-way Sorting:

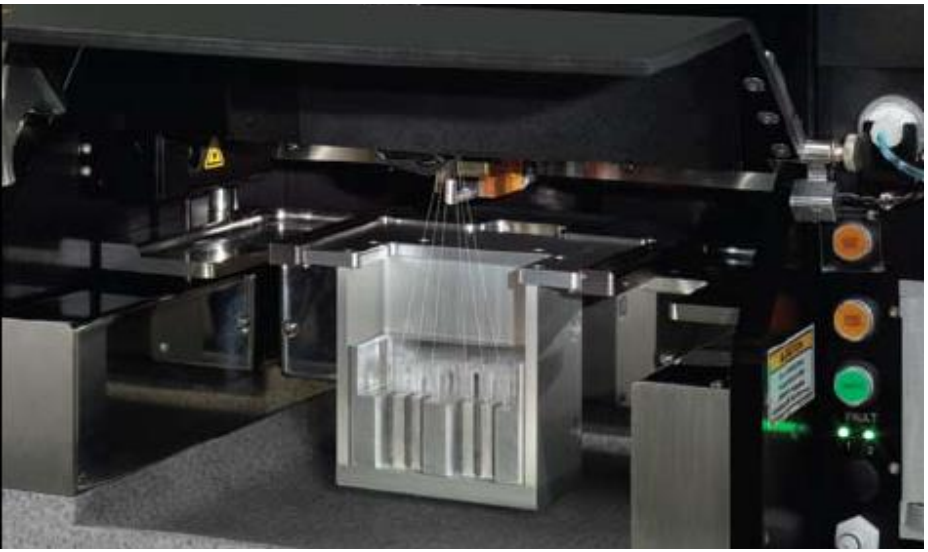
Acepta hasta 6 criterios de separación simultáneos





Multi-way Sorting:

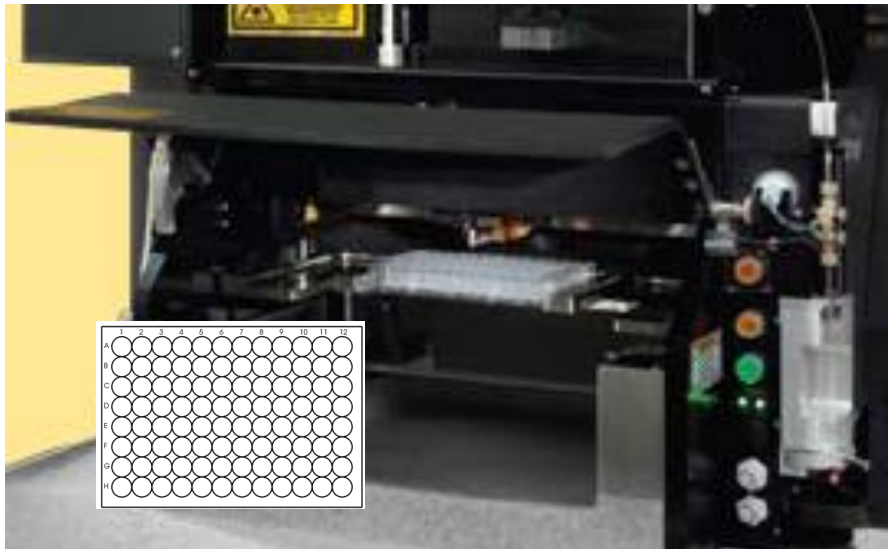
Acepta hasta 6 criterios de separación simultáneos



Separación de subpoblaciones

Sorting Posicional:

Puede dispensar # deseado de partículas “sortiadas” en placas 96 well



Clonado de Hibridomas
Cultivos sincronizados
Cultivos microbiológicos

Fundamentos básicos de la Citometría de Flujo. Fluorocromos.

Historia y funcionamiento básico del citómetro

Sistemas que componen el equipo

Representación gráfica de datos y análisis

Flow sorting

Fluorocromos en citometría de flujo

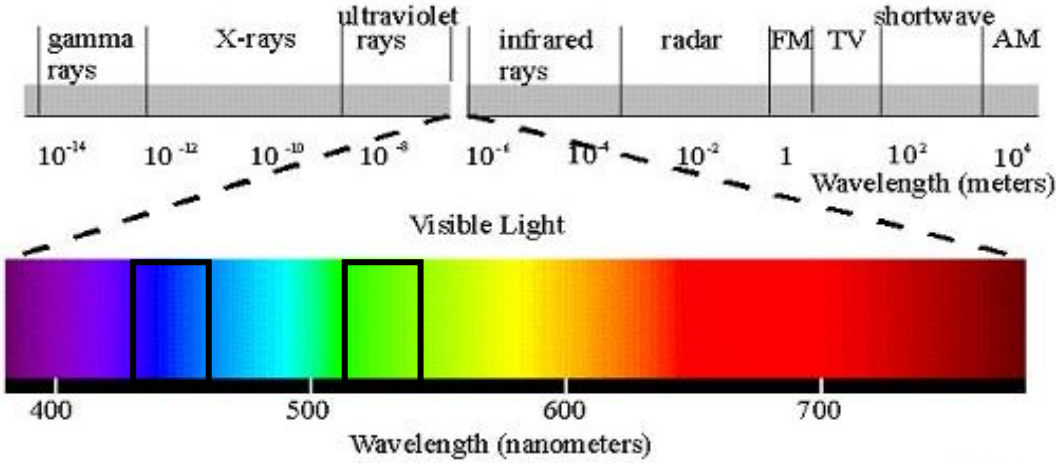
Fluorescencia

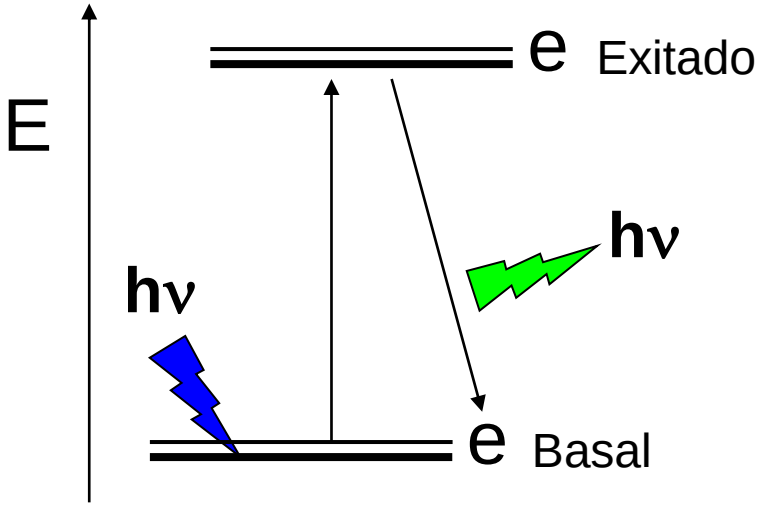
$$E = h \cdot \nu$$

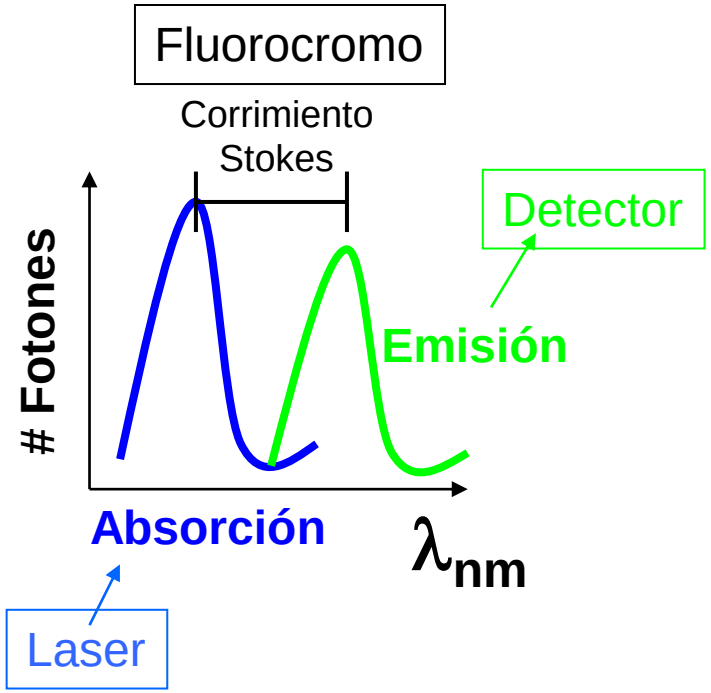
$$E = h \cdot c/\lambda$$

↓

A **mayor** energía,
menor longitud de onda





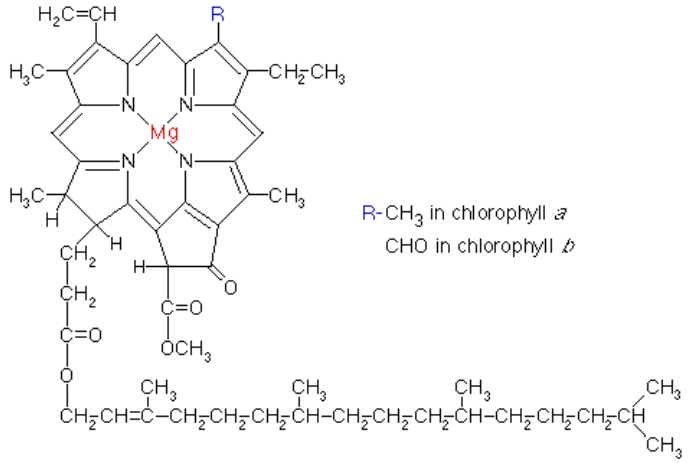


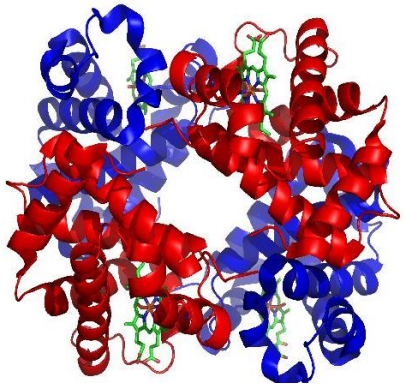
Fluorocromos: Aspectos generales

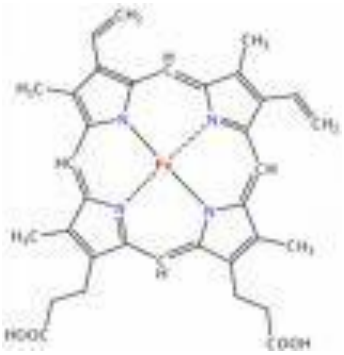
Sus moléculas poseen (o son) fluoróforos

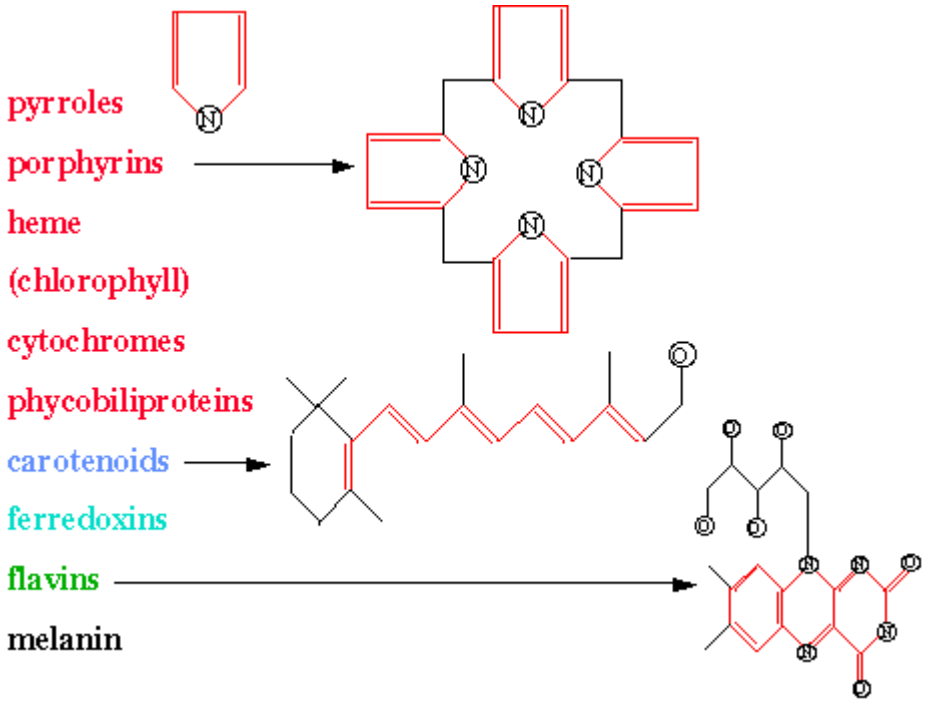
(fluoróforo: tipo particular de cromóforo)

Cromóforos: grupos de átomos enlazados ("moiety") causantes del color de la molécula que los contiene.



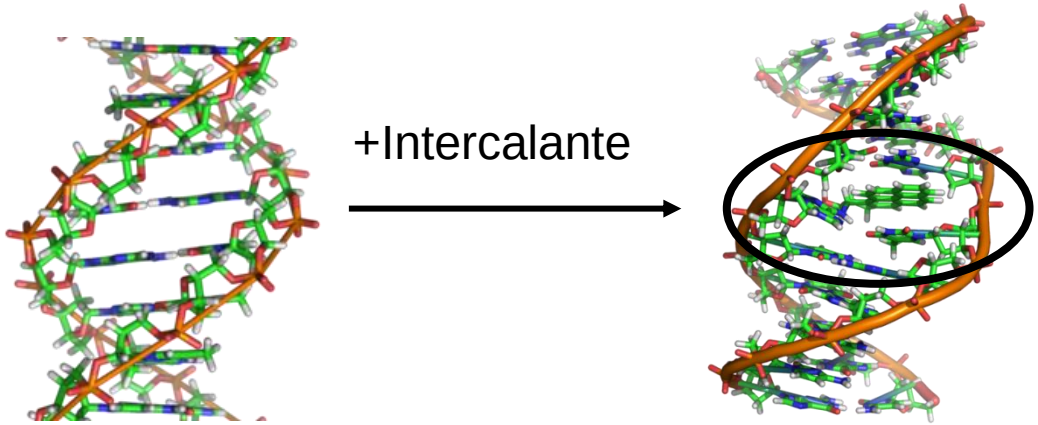




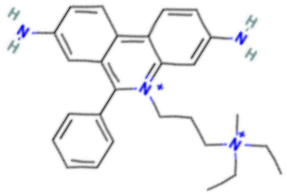


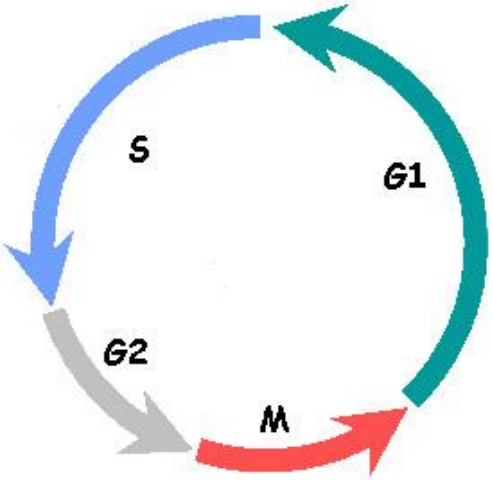
Fluorocromos orgánicos I:

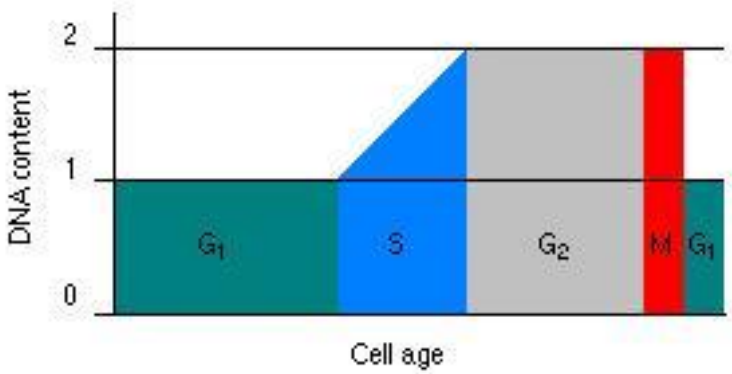
Compuestos que se intercalan en el DNA

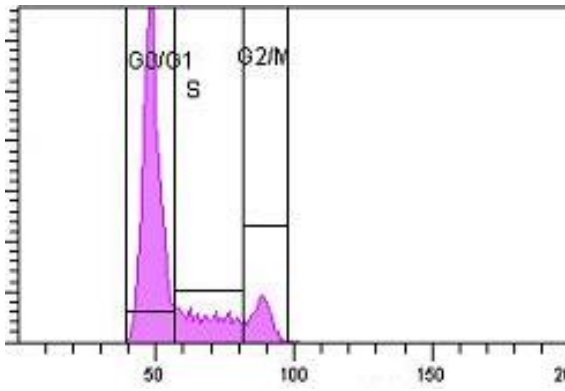


Moléculas Aromáticas planas (Ej.:Ioduro de Propidio (IP))







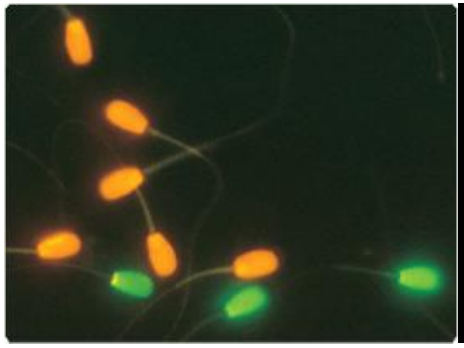


Intercalante

Fluorocromos orgánicos I:

Propiedades útiles de los colorantes del DNA

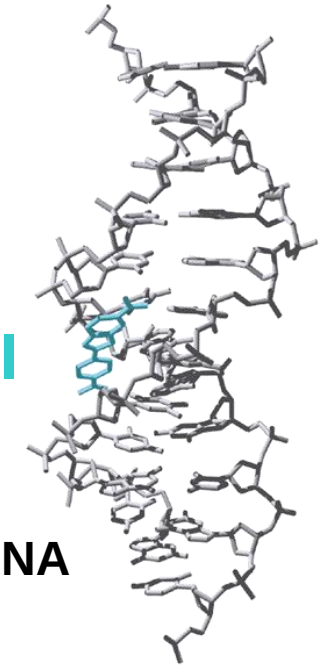
Permeabilidad celular (viabilidad):



SYBR® 14 dye
Vivo

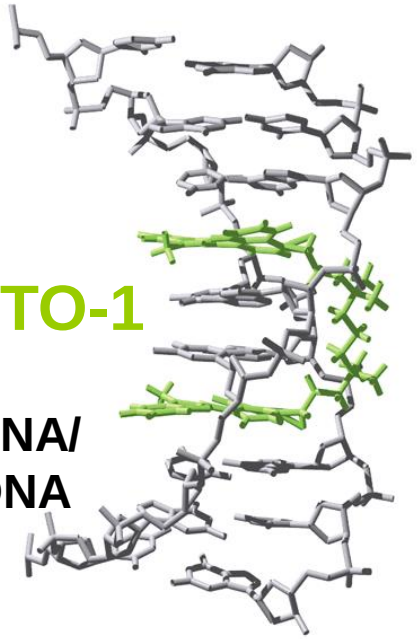
Ioduro de Propidio (IP)
Muerto

Unión al DNA:



DAPI

dsDNA

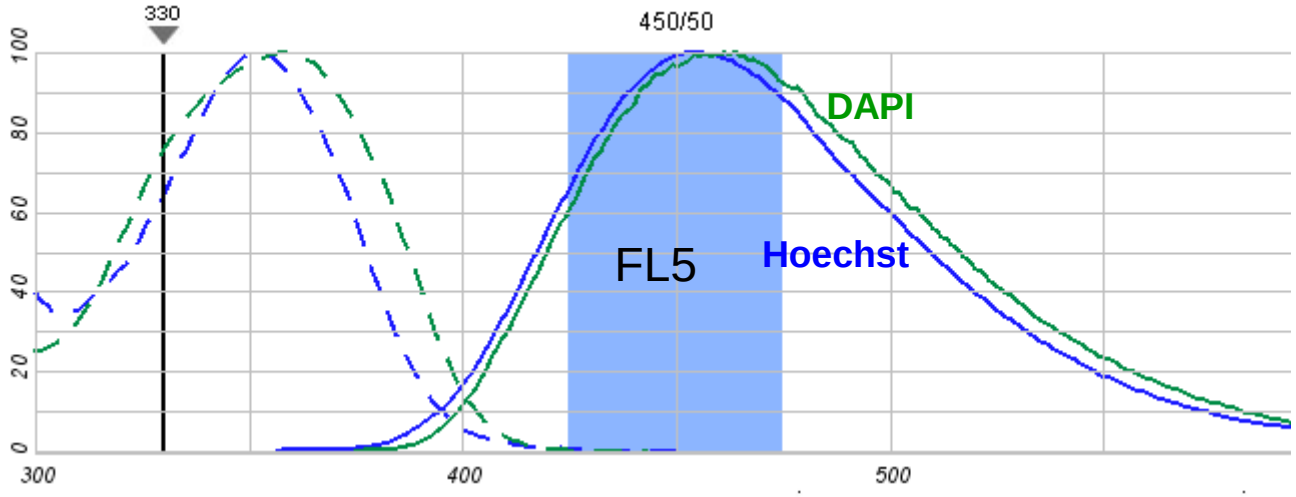


TOTO-1

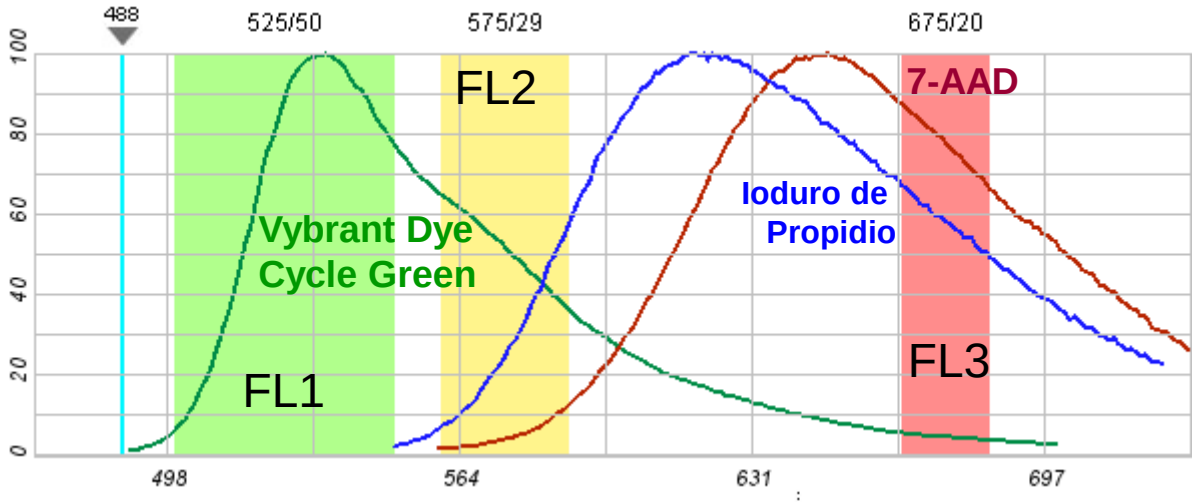
ssDNA/
dsDNA

Fluorocromos orgánicos I:

Propiedades espectrales de colorantes del DNA



Laser Ultra violeta

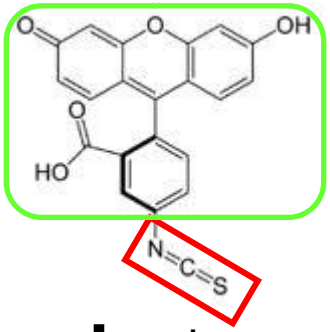


Laser 488

Fluorocromos orgánicos II:

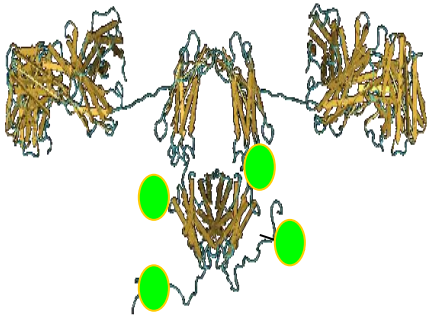
Compuestos que se conjugan a biomoléculas

Grupo fotoactivo (ej: Fluoresceina)

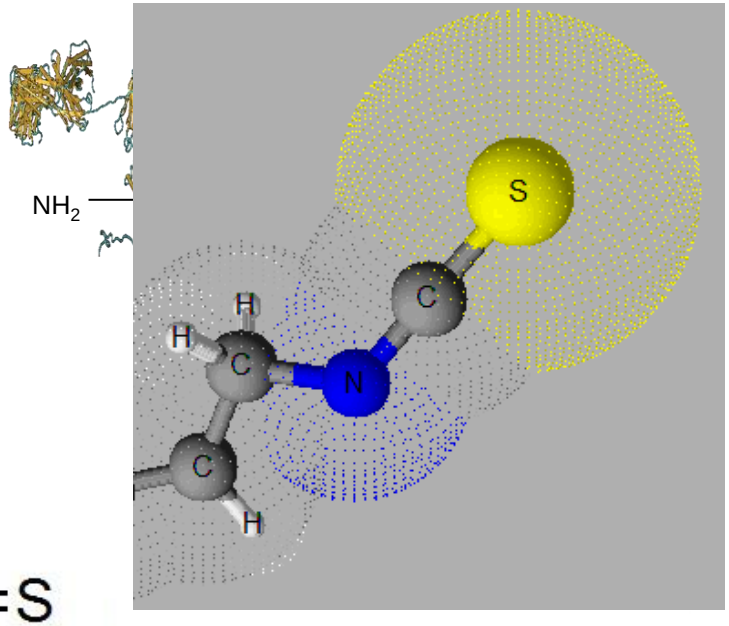


Conjugación

(unión covalente)



Grupo reactivo (ej: isotiocianato)

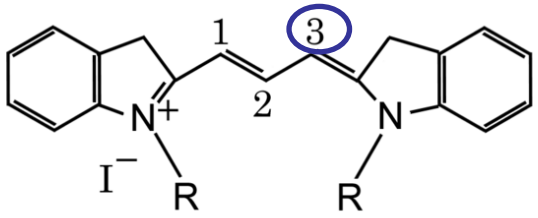


Fluorocromos orgánicos II:

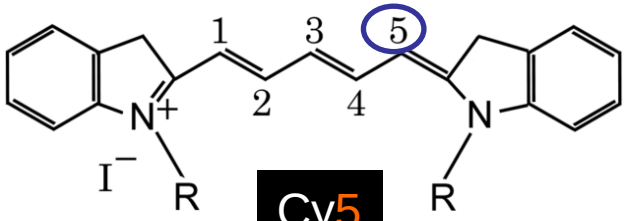
Compuestos que se conjugan a biomoléculas

80-90's

Cy "Cyanine"



Cy3



Cy5

Probe	Ex (nm)	Em (nm)	MW	Quantum yield
Cy2	489	506	714	0.12
Cy3	(512);550	570;(615)	767	0.15
Cy3.5	581	594;(640)	1102	0.15
Cy3B	558	572;(620)	658	0.67
Cy5	(625);650	670	792	0.28
Cy5.5	675	694	1128	0.23
Cy7	743	767	818	0.28

$$\Phi = \frac{\#\ \text{photons emitted}}{\#\ \text{photons absorbed}}$$

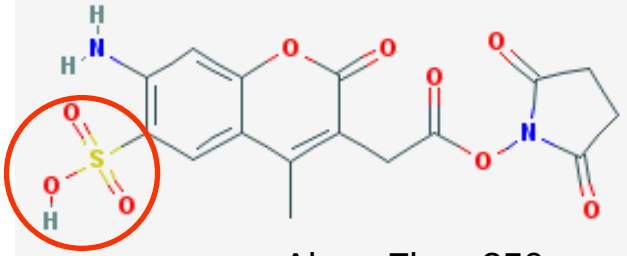
Fluorocromos orgánicos II:

Compuestos que se conjugan a biomoléculas

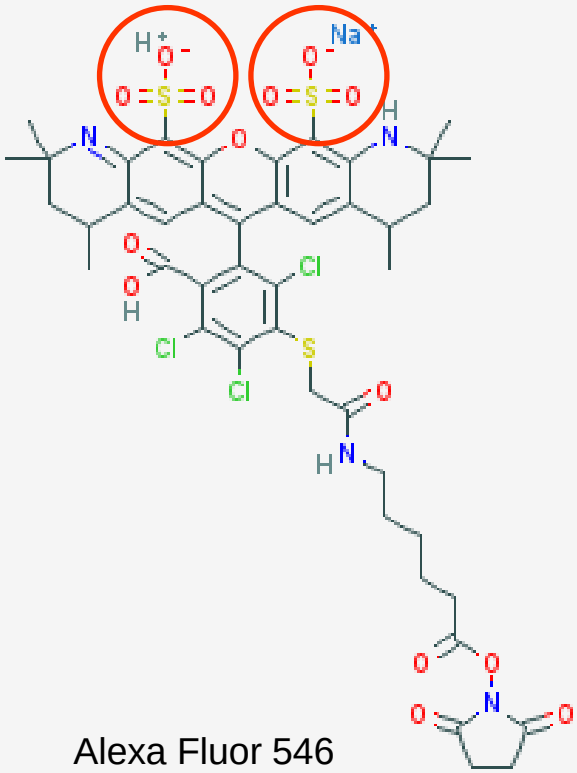
2000's

Alexa Fluor

Probe	Ex (nm)	Em (nm)	MW	Quantum yield
Alexa Fluor-488	495	519	643	0.92
Alexa Fluor-532	532	554	721	0.61
Alexa Fluor-546	556	573	1079	0.79
Alexa Fluor-546	578	603	792	0.69
Alexa Fluor-594	590	617	820	0.66



Alexa Fluor 350

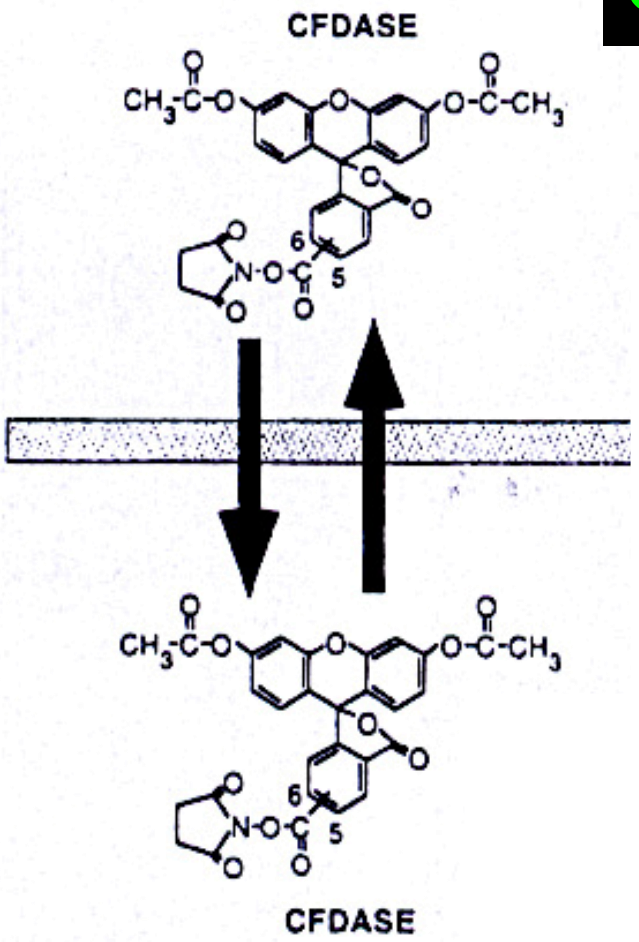


Alexa Fluor 546

Fluorocromos orgánicos III:

Compuestos que *se modifican* por actividad celular

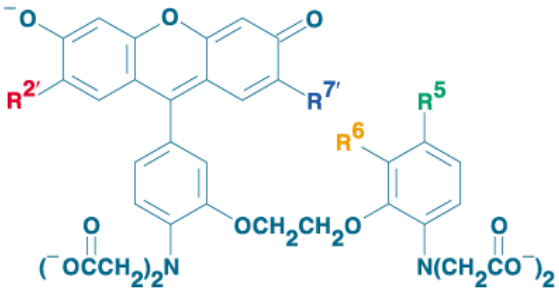
CFDASE



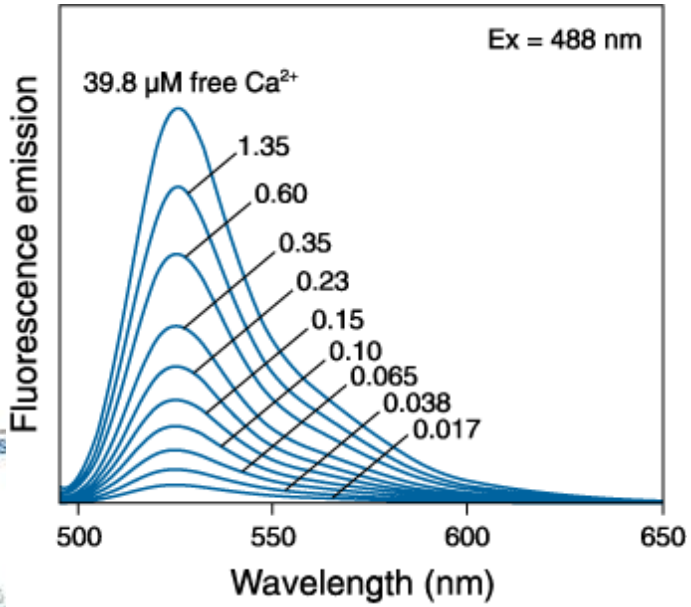
Carboxi**F** **C**arboxi**F**luorescein**R**protein idil**E**ster

Fluorocromos orgánicos III’:

Compuestos que *se modifican* en función del medio intracelular

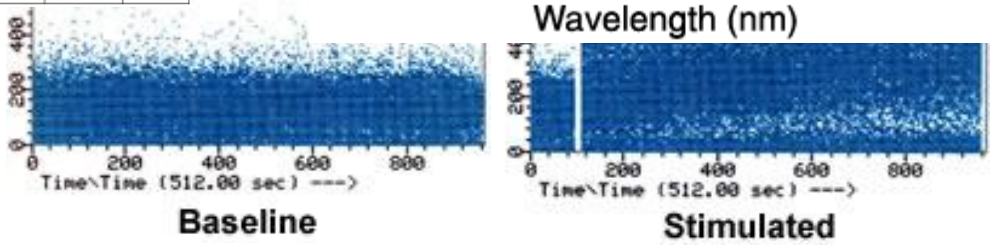


Indicator	$K_d(Ca^{2+})$	$R^{2'}$	$R^{7'}$	R^5	R^6
Fluo-3	0.39 µM	Cl	Cl	CH_3	H
Fluo-4	0.35 µM	F	F	CH_3	H
Fluo-5F	2.3 µM	F	F	F	H
Fluo-5N	90 µM	F	F	NO_2	H
Fluo-4FF	9.7 µM	F	F	F	F



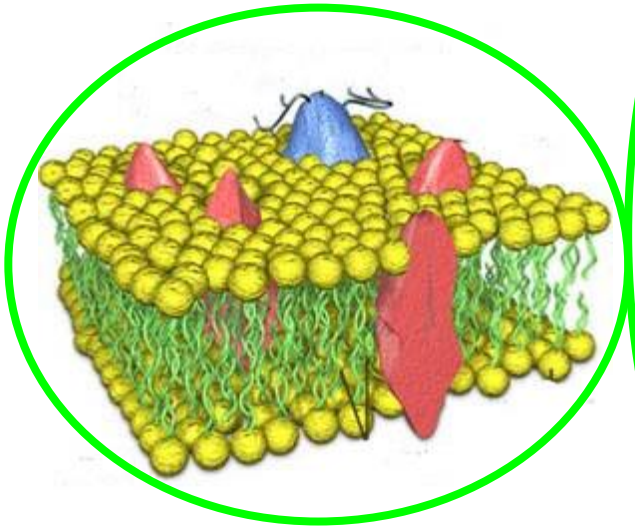
Aplicación

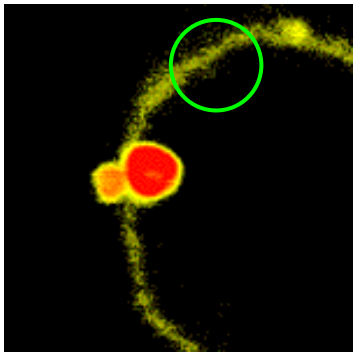
flujo de Ca^{2+} intracelular

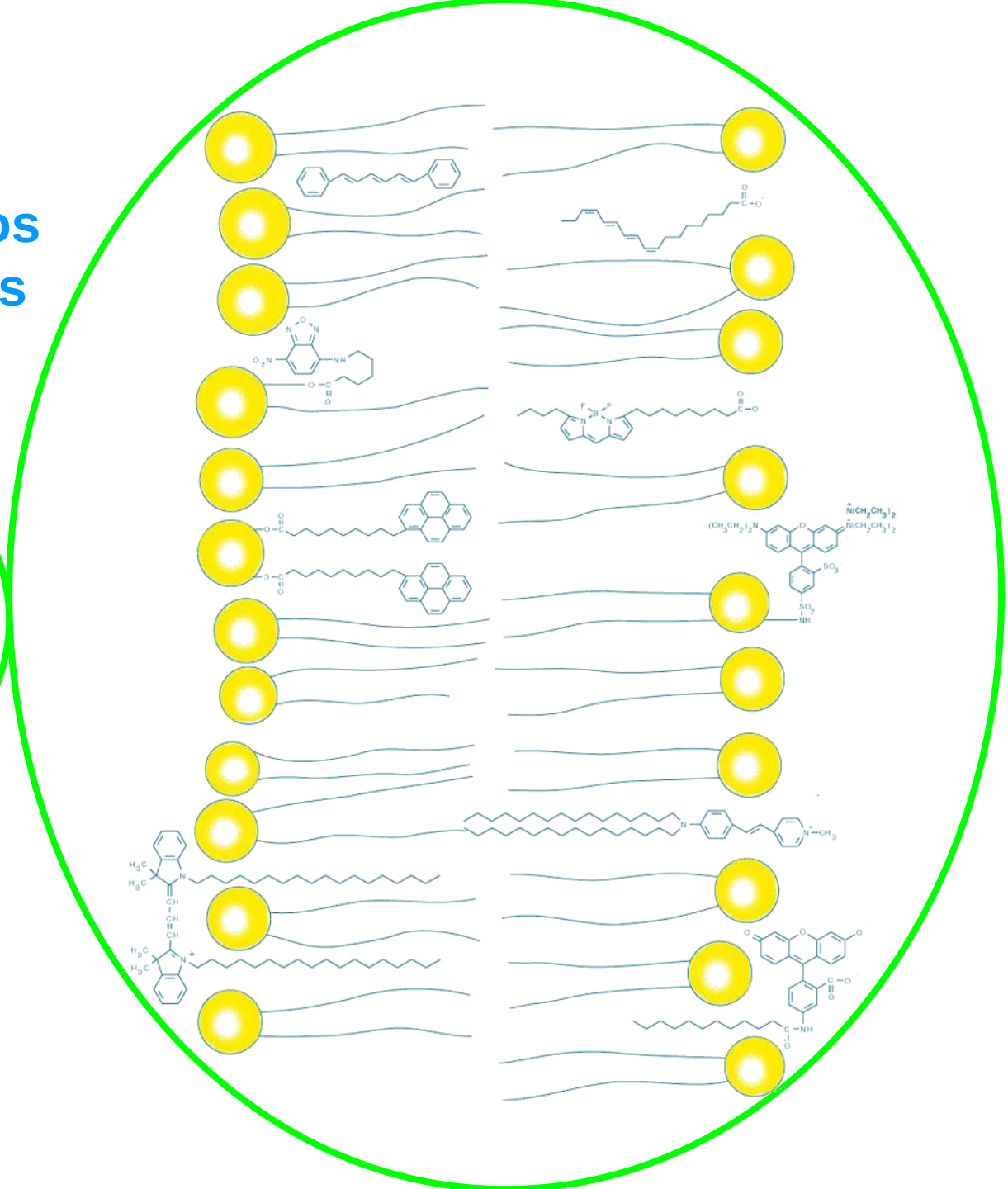


Fluorocromos orgánicos IV:

Compuestos lipofílicos que se integran en las biomembranas





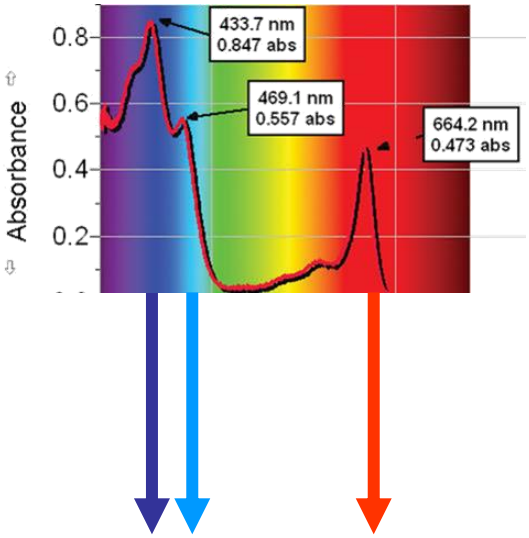


Fluorocromos Orgánicos vs Biológicos

Orgánicos	Biológicos
Moléculas orgá-nicas pequeñas	Proteínas con cromóforos
Mw <0.5KD	>20KD
$	$$
Sintéticos	Naturales/ Recombinantes
Qca. Orgánica	Biotecnología

Fluorocromos Biológicos I

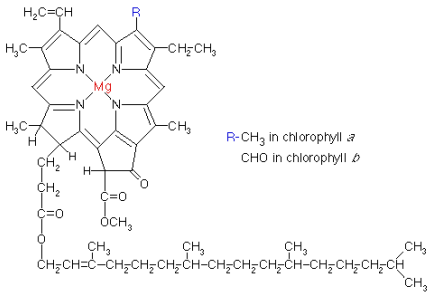
Ficobiliproteínas

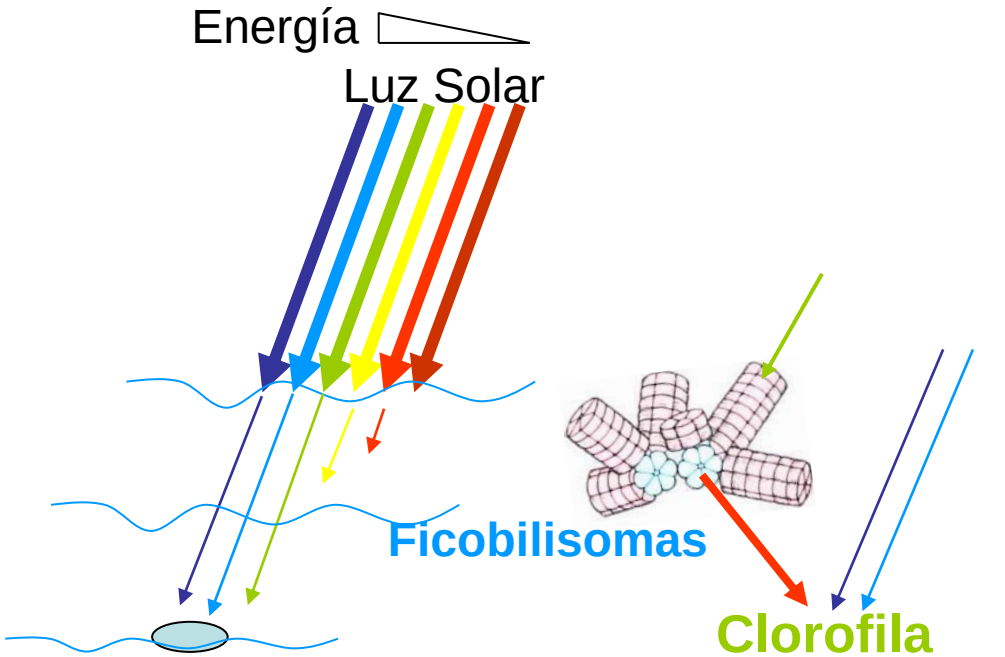


Clorofila

(Plantas terrestres)

Fotosintesis





Algas Rojas

Cyanobacterias

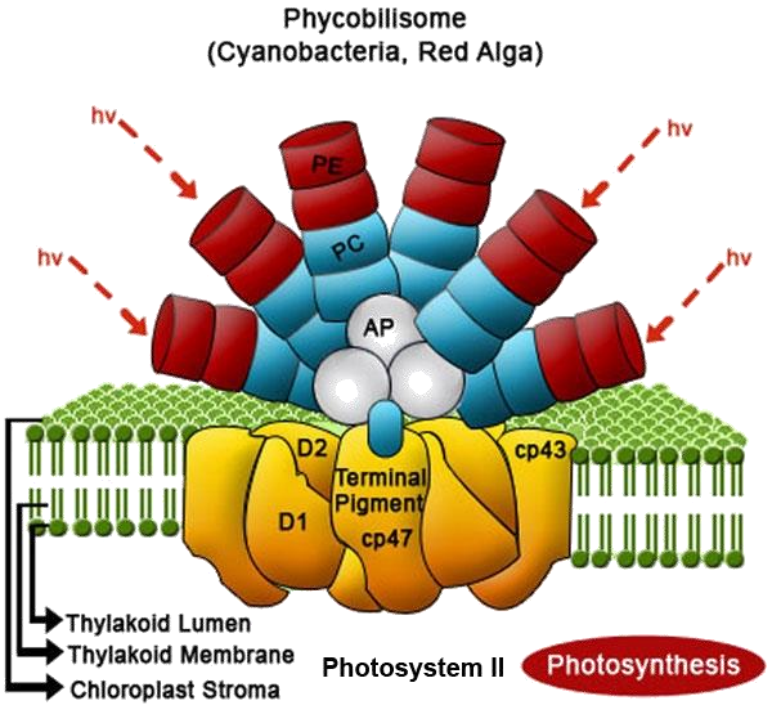
Clorofila

(Algas marinas)

Fotosintesis

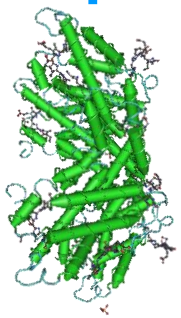
Fluorocromos Biológicos I

Ficobiliproteínas



Producción

Ficobiliproteina



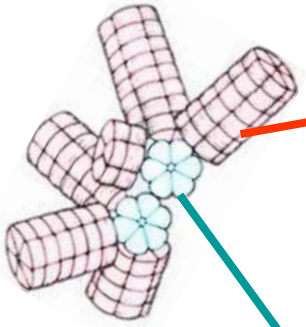
Fluorocromos Biológicos I

Ficobiliproteínas

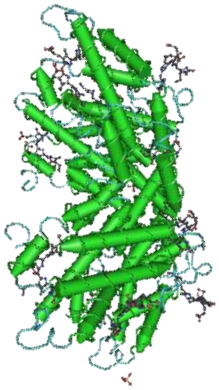
Corallina officinalis
Alga roja

Anabaena flos-aquae
Cyanobacteria

Phycobilisomas



R-Phycoerythrin (R-PE)

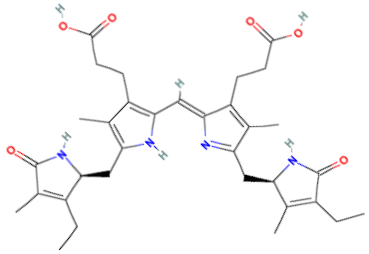


1:34

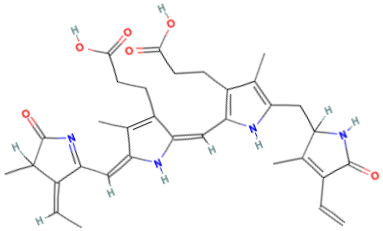
Allophycocyanin (APC)

1:6

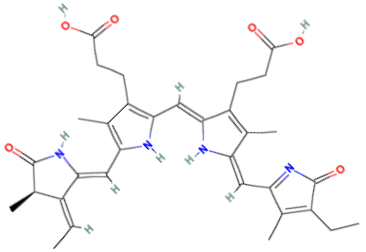
Grupos prosteticos Cromoforos



phycourobilin



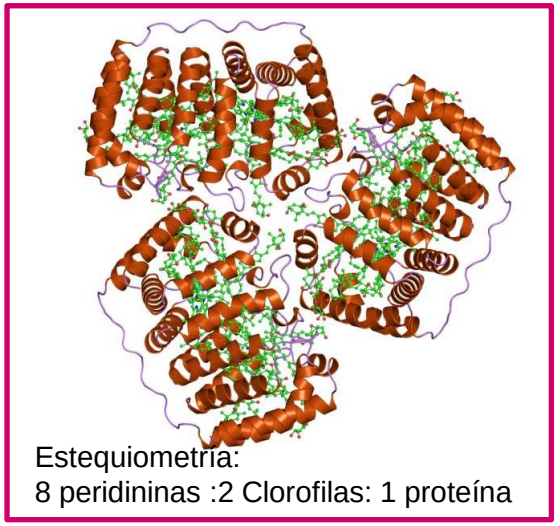
phycoerythrobilin



phycocyanobilin

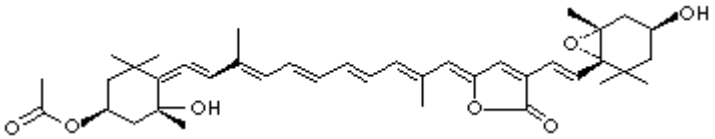
Fluorocromos Biológicos I

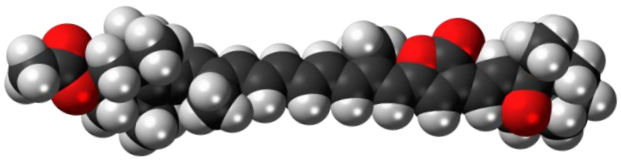
PerCp



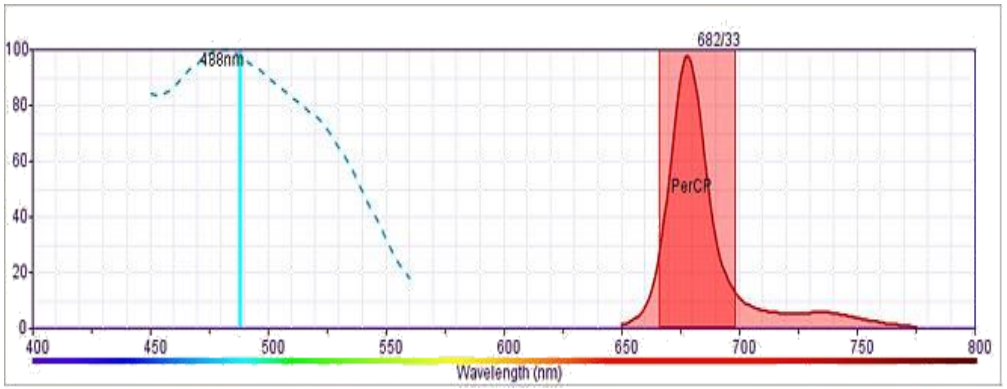
Estequiometría:
8 peridininas :2 Clorofilas: 1 proteína

Peridinin-**C**hlorophyll-**P**rotein (**PerCP**) light-harvesting complex de **dinoflagelados**.



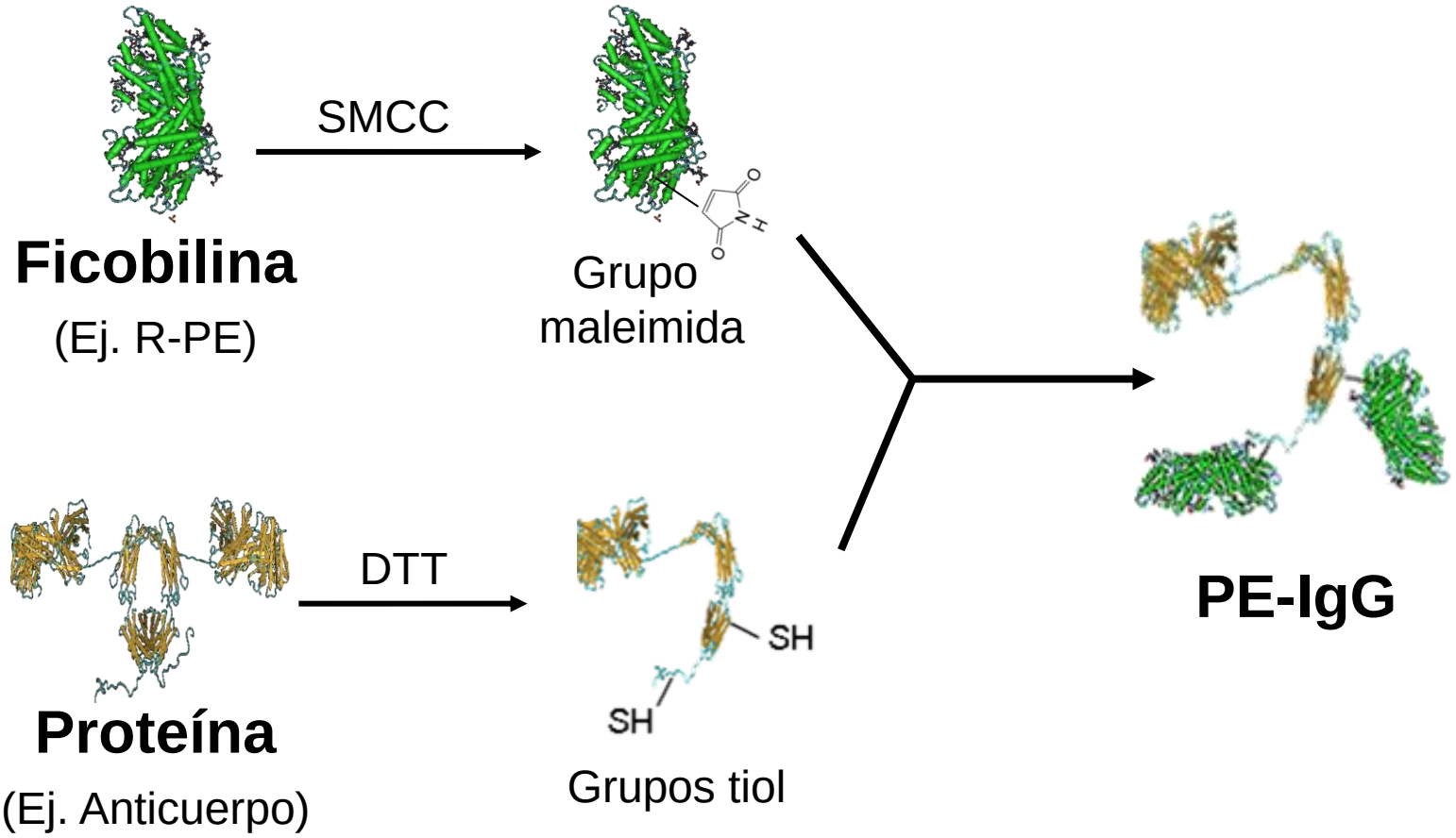


Peridinin (cromóforo carotenide)



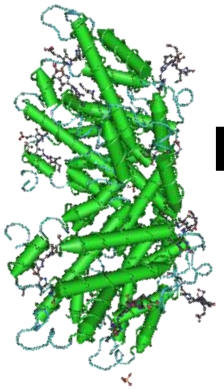
Fluorocromos Biológicos I

Conjugación direccionada de Ficobiliproteínas



Fluorocromos Biológicos II:
Fluorocromos en Tandem

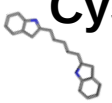
Fluorocromo Biológico



PE

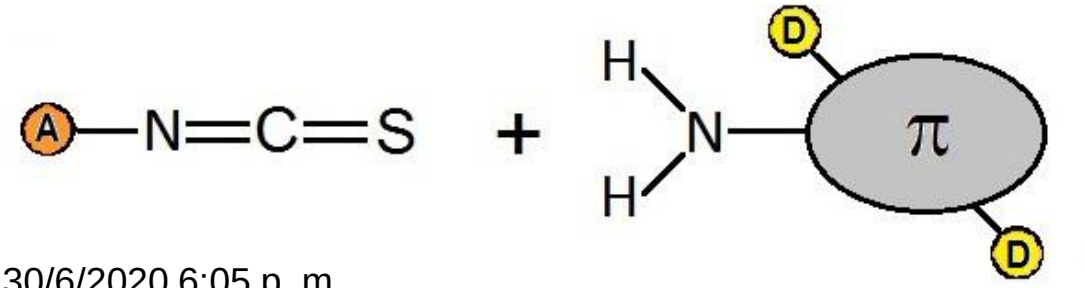
Conjugación

Fluorocromo Orgánico

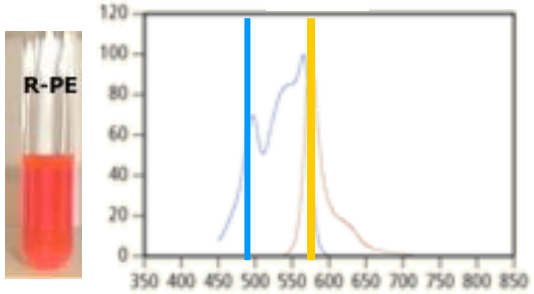


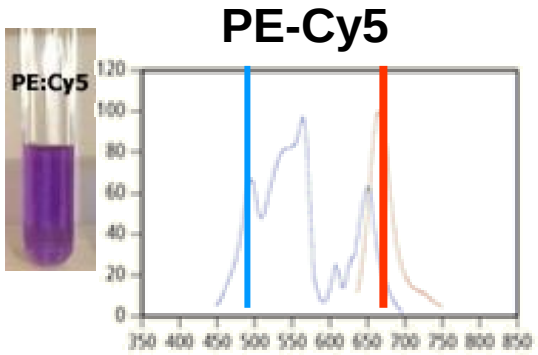
Cy5

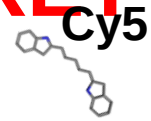
?

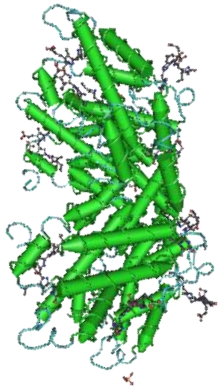


Fluorocromos en *tandem*: FRET





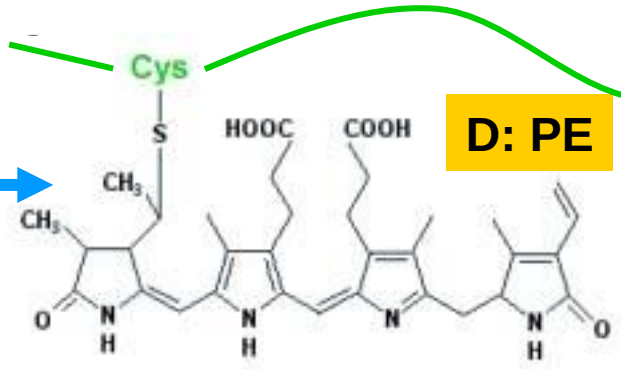




FL3

$Laser_{488nm}$

PE



hν 488nm

D: PE

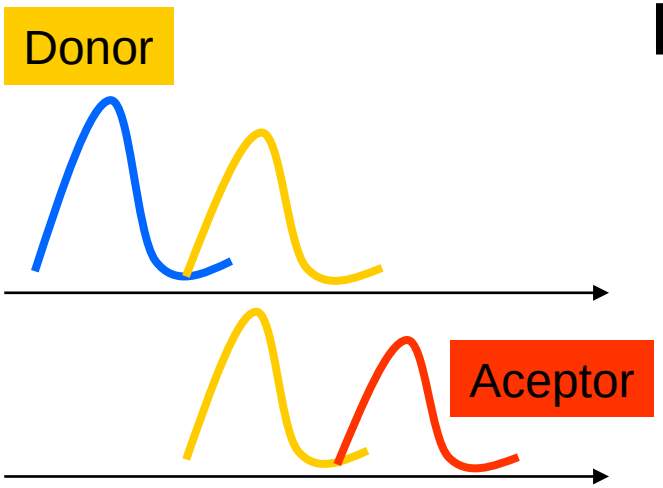
$h\nu_{575nm}$

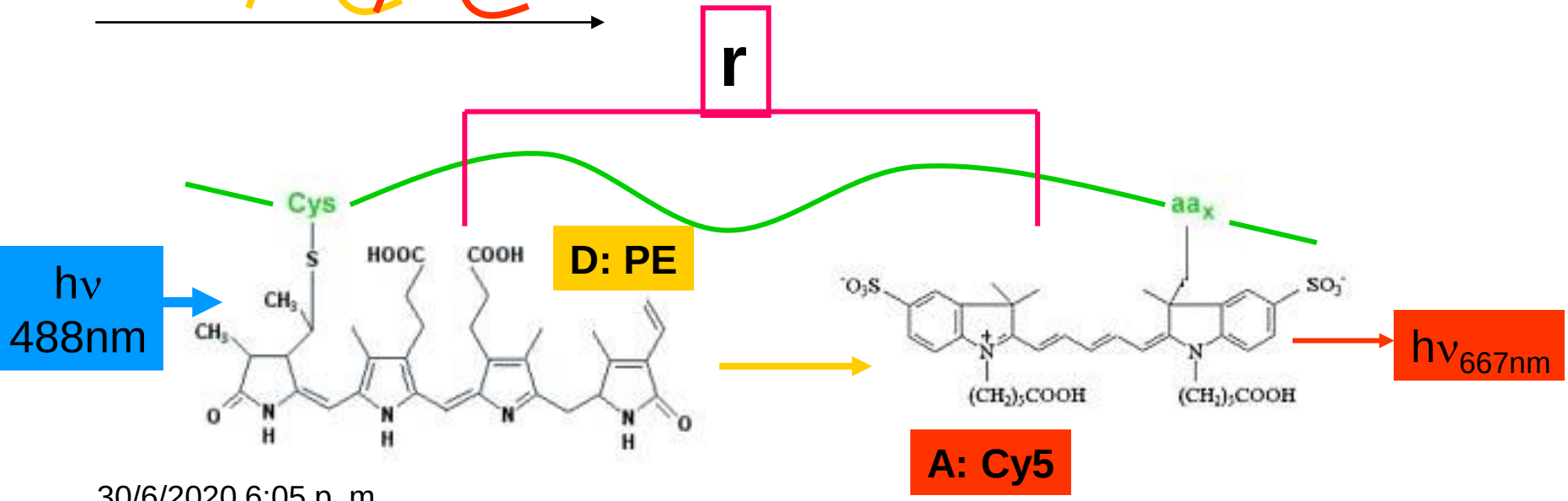
$h\nu_{667nm}$

A: Cy5

Fluorocromos en *tandem*: FRET

FRET $\longrightarrow$ **f [λ_{em} D, λ_{Abs} A, r (dist D-A)]**

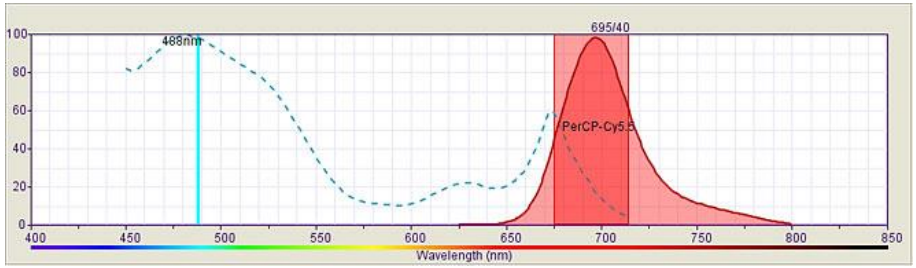




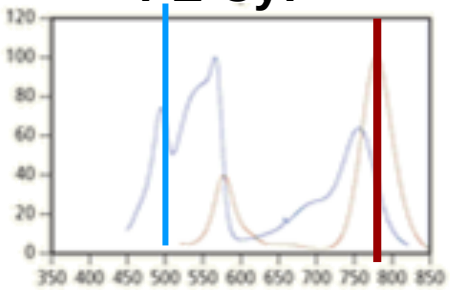
30/6/2020 6:05 p. m.

Otros Fluorocromos en *tandem*:

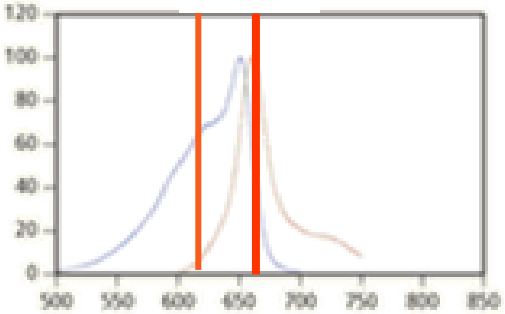
PerCp-Cy5.5



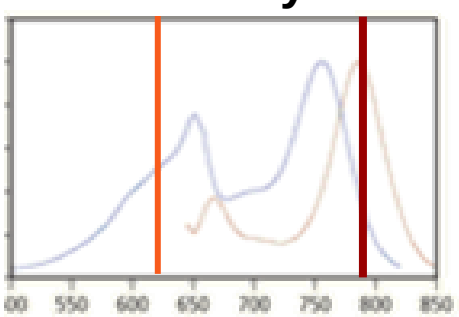
PE-Cy7

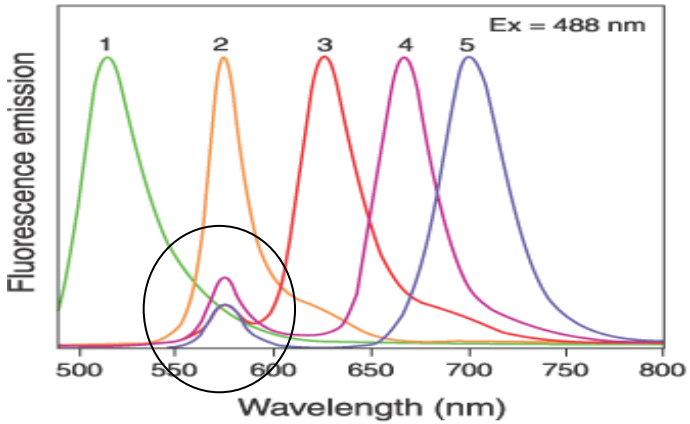


APC



APC-Cy7





1: Alexa Fluor 488

2: R-PE

3: Alexa Fluor 610–R-PE

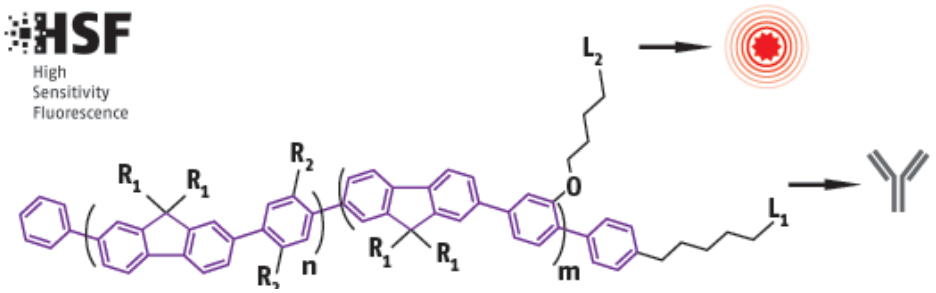
4: Alexa Fluor 647–R-PE

5: Alexa Fluor 680–R-PE

Nueva generación de fluorocromos *tandem*: **H**igh **S**ensivity **F**luorescence

Nobel de Química 2000:

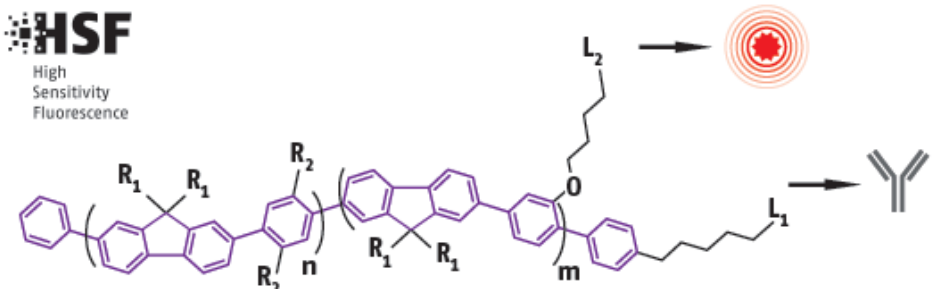
Polímero π-conjugado



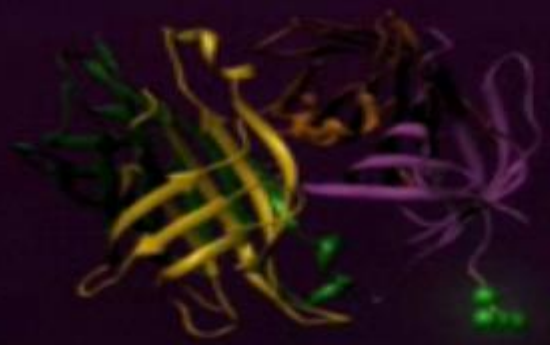
Nueva generación de fluorocromos *tandem*: **H**igh **S**ensivity **F**luorescence

Nobel de Química 2000:

Polímero π-conjugado



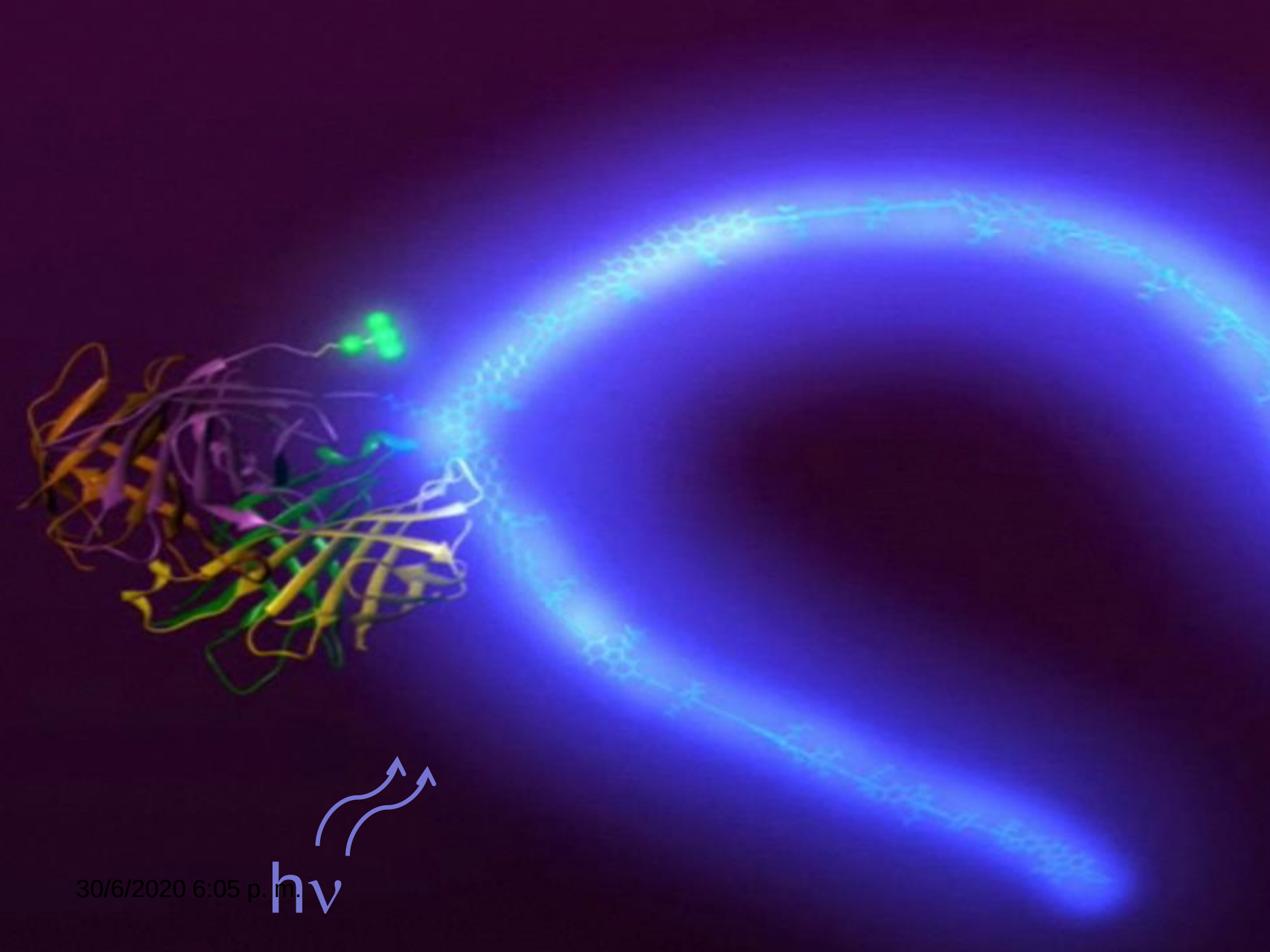
http://www.sirigen.com/video_gallery.html

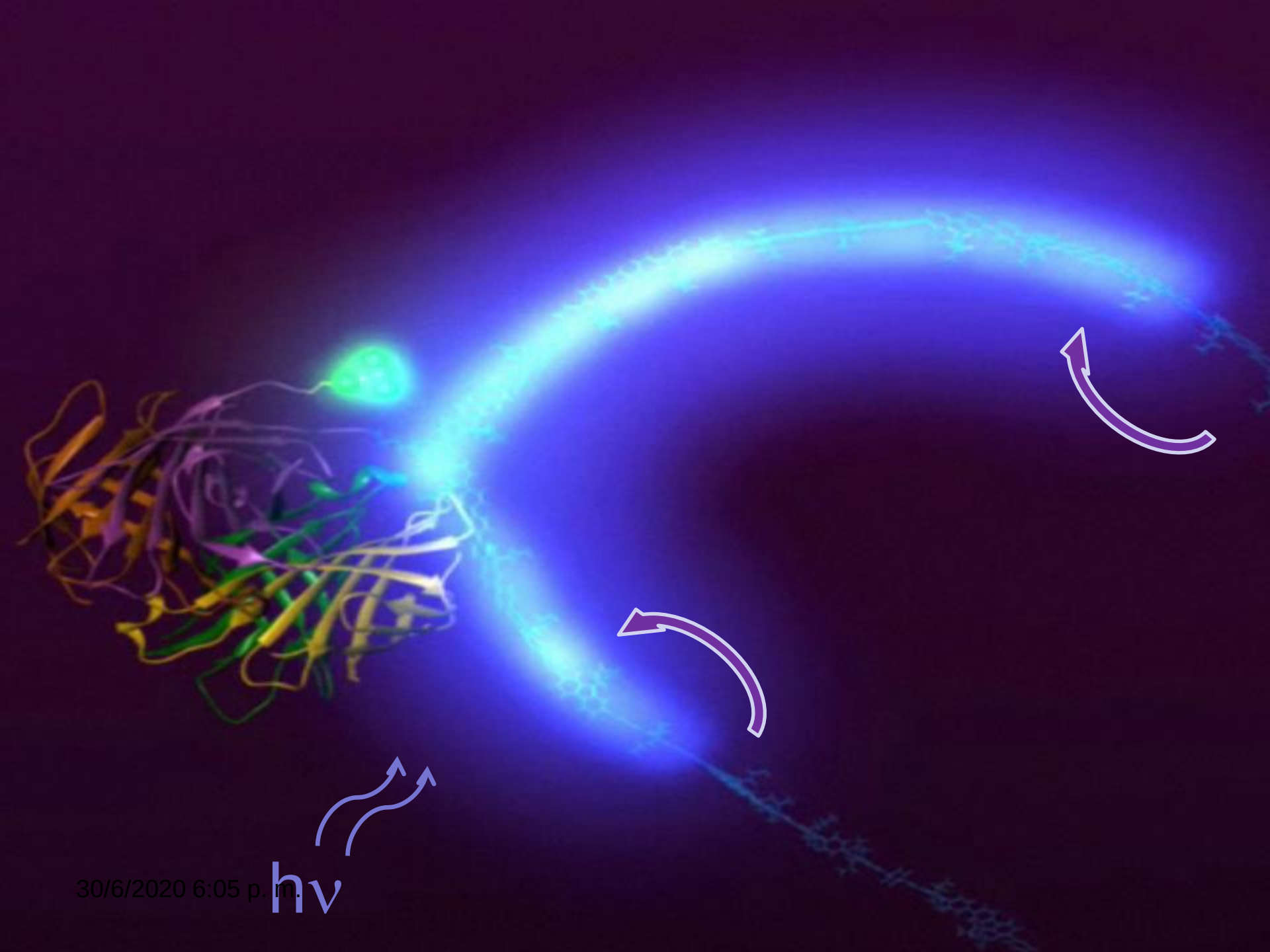


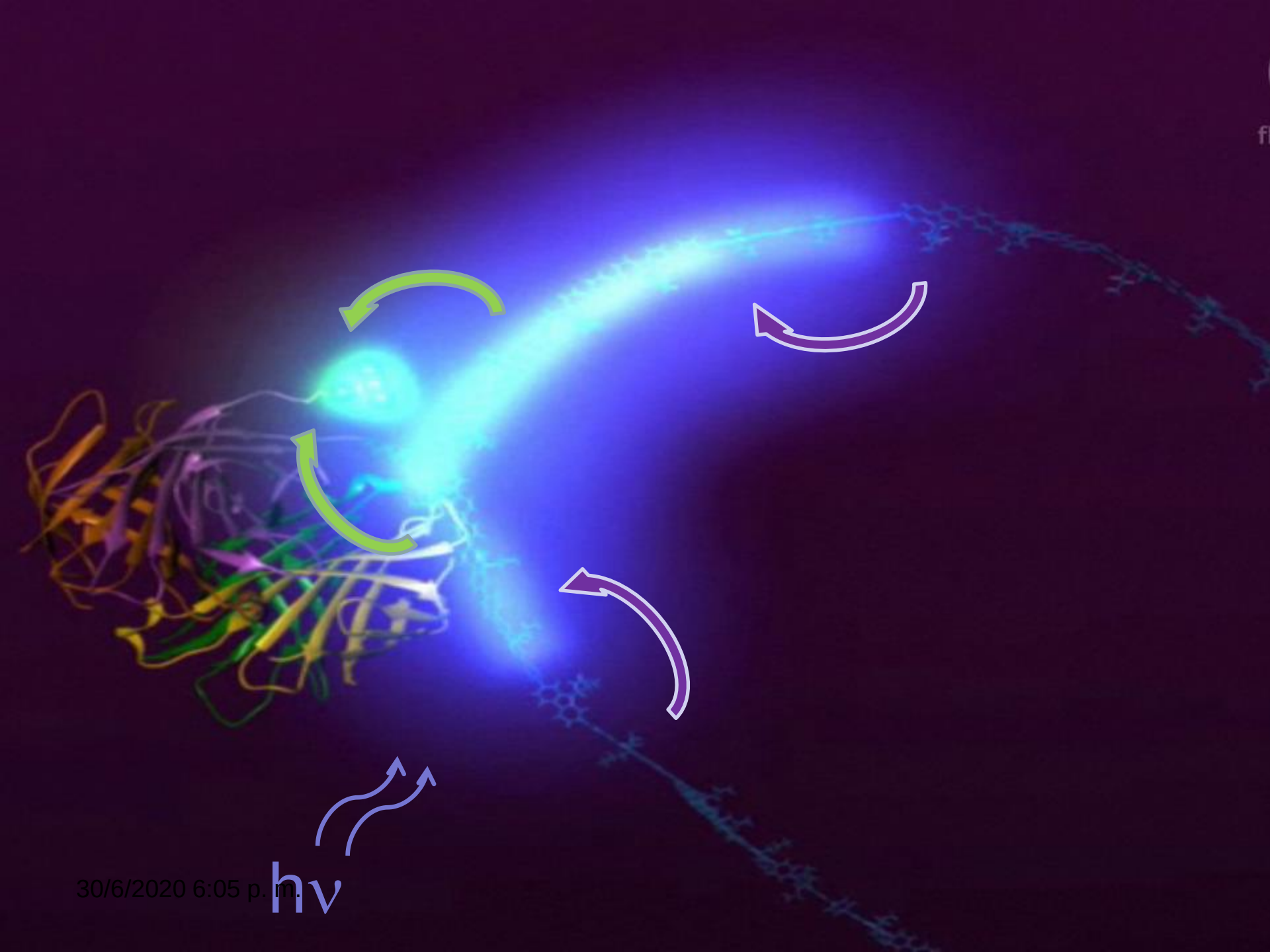
Proteína

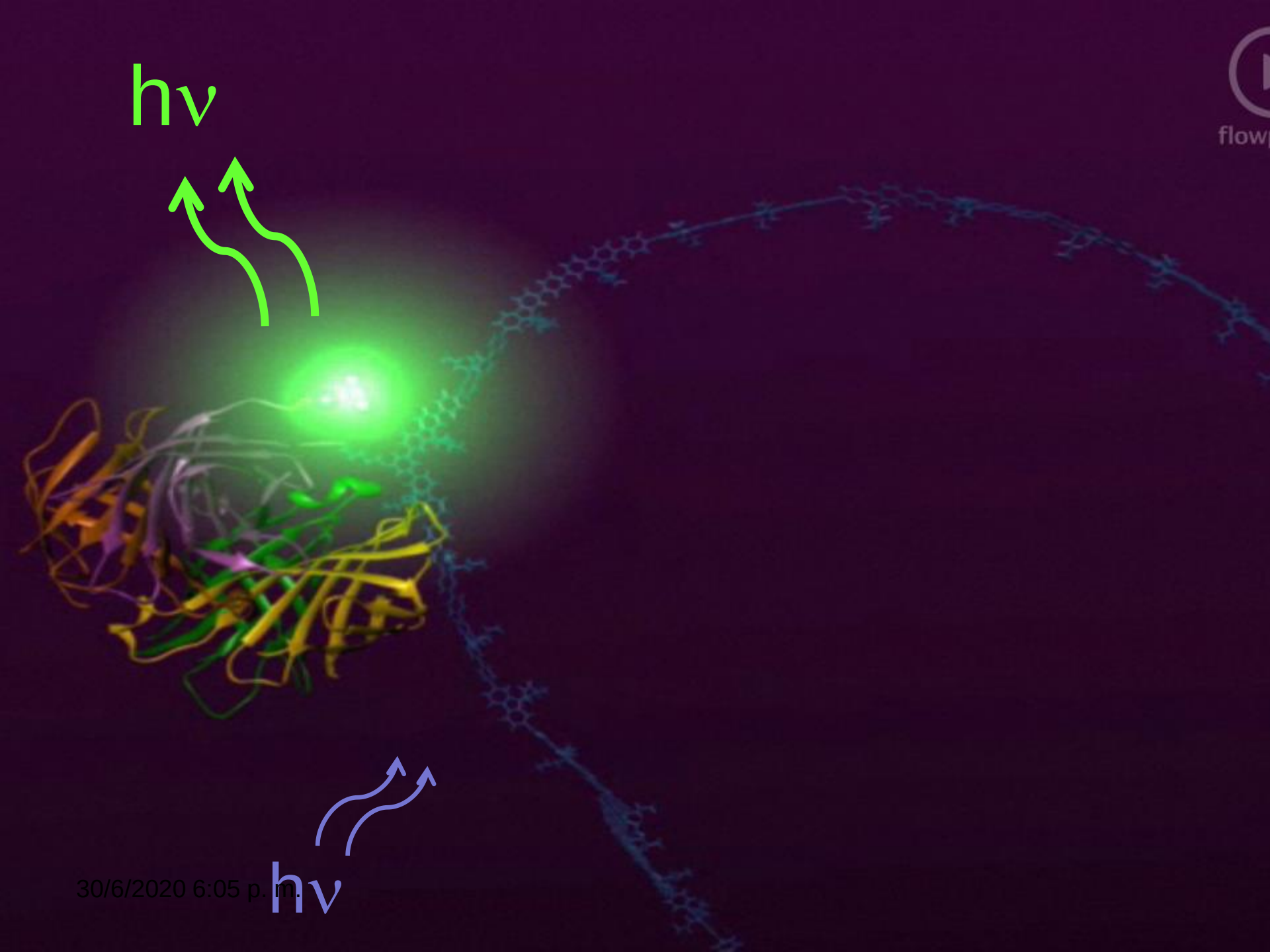
Fluoroforo aceptor

Polimero Π-conjugado


hν


hν

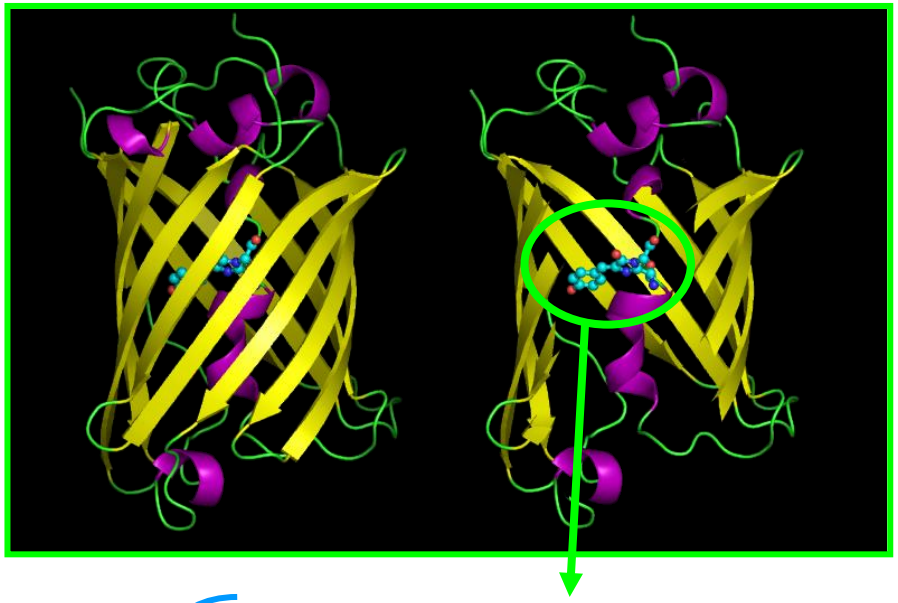

hν

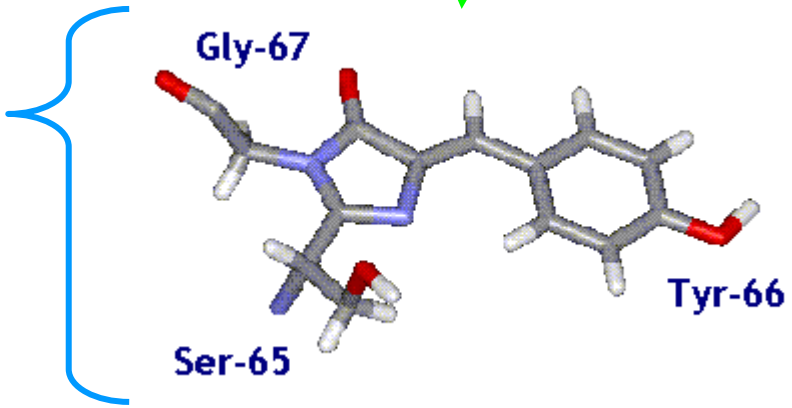

hν
hν

Fluorocromos Biológicos III

Proteina verde fluorescente "GFP" *et al*.

(Nobel de Química 2008)





Concepto:

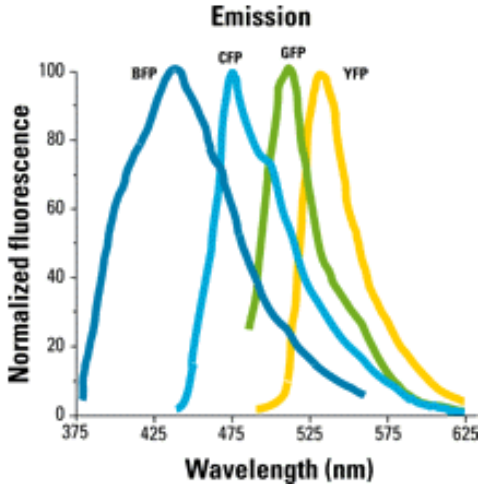
El **cromóforo** está "codificado" genéticamente

≠

fluoroforo grupo prostético adicionado post-traduccionalmente (ej. Ficobilinas, citocromos, etc.)

Fluorocromos Biológicos II: GFP

Mutagésis dirigida de GFP

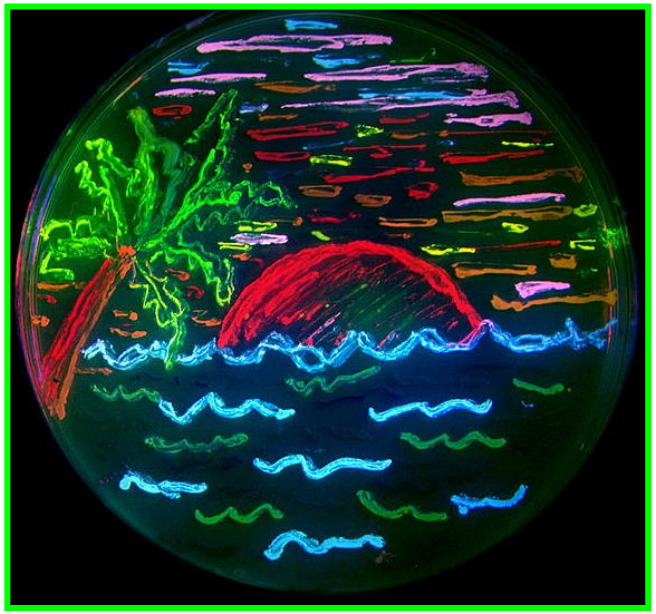


YFP

EGFP

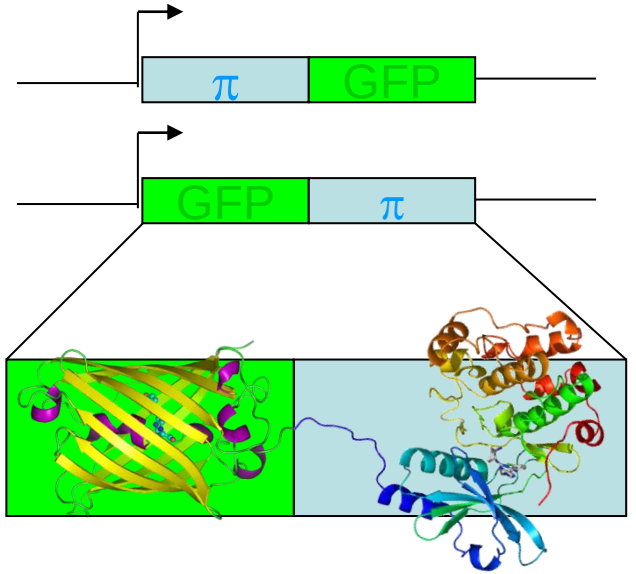
CFP

BFP



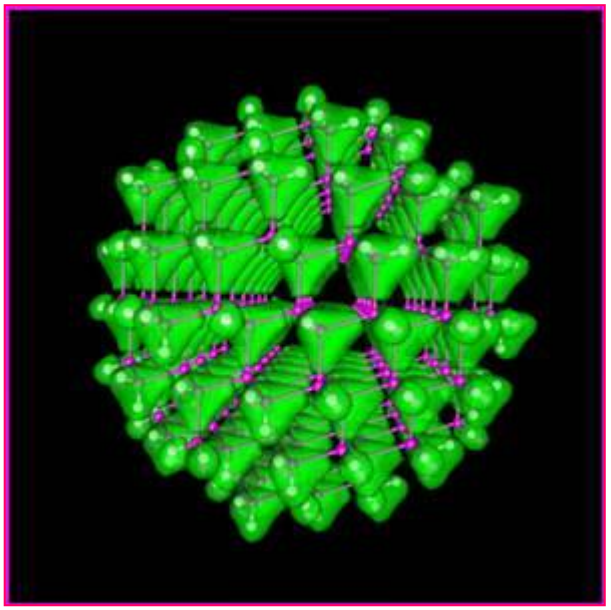
Ingenieria genética basada en GFP

Proteina de fusión



Fluorocromos Nanotecnológicos

QUANTUM DOTS



Nanocristales (1-100nm)

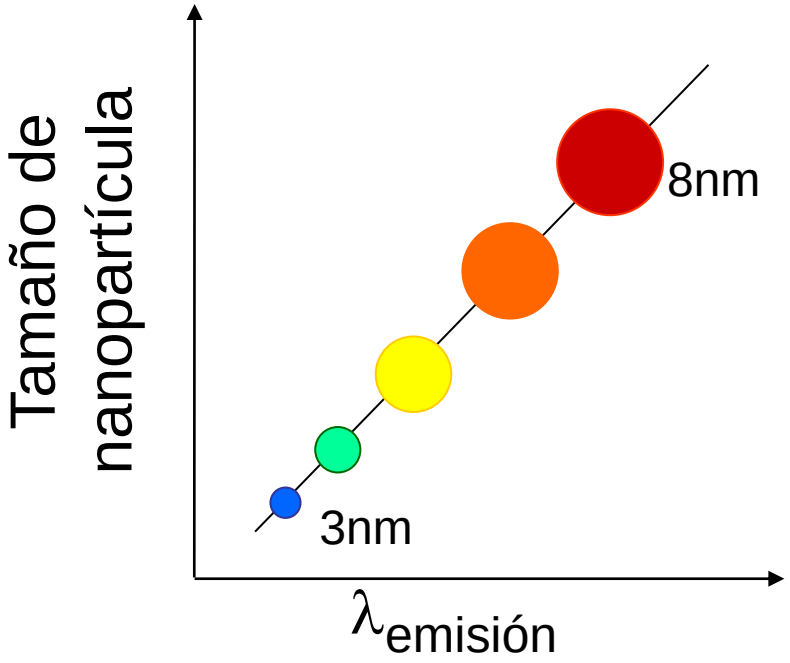
Inorgánicos semiconductores con propiedades electromagnéticas únicas de altísimo potencial tecnológico.

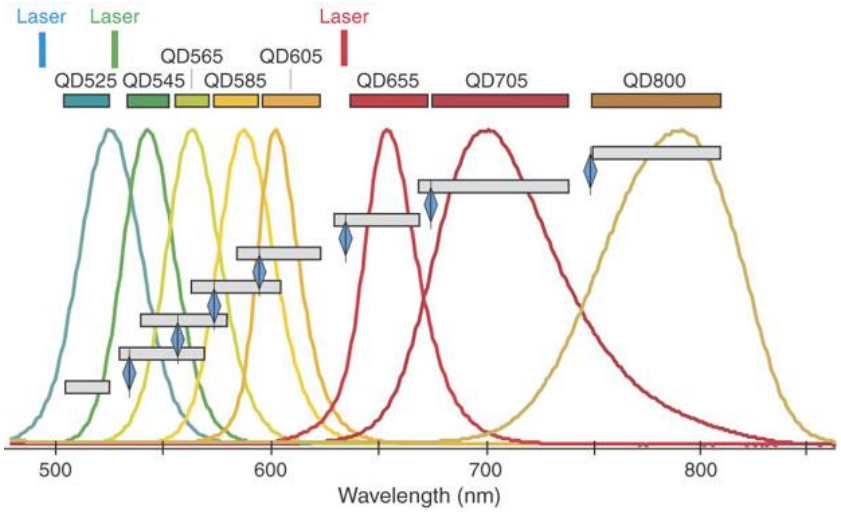
Electrónica (computación, materiales, etc.)

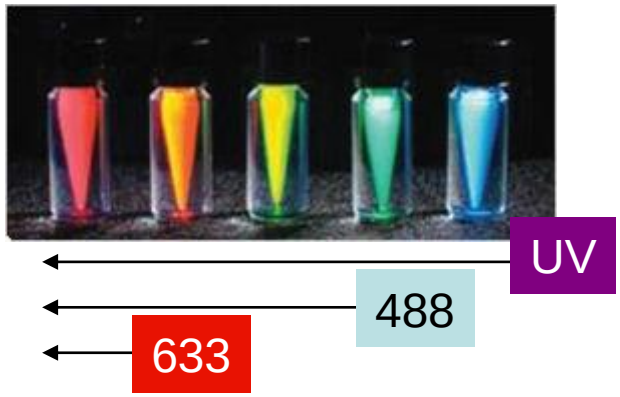
Fotónica (óptica, biología, etc.)

Fluorocromos Nanotecnológicos

QUANTUM DOTS



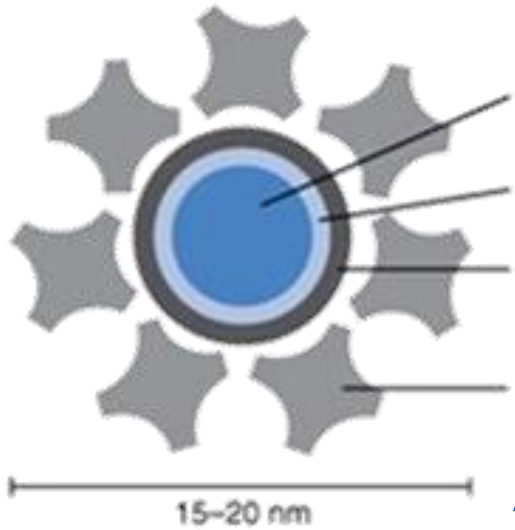




Pratip et al. ***Nature Medicine*** - 12, 972 - 977 (2006)

QUANTUM DOTS p/citometría de fluorescencia

Qdot®: Molecular Probes



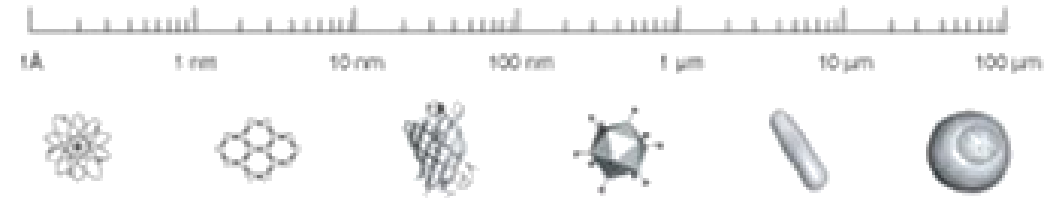
Cadmio/selenio o Cadmio/tellurio
Arreglo de Quantum dots (uno o varios)

Sulfuro de Zinc
Matriz inorgánica p/aumentar estabilidad Q-D

PEG, Dextran, etc
Película orgánica p/aumentar solubilidad y aportar grupos funcionales p/unir biomoléculas

Molécula bioactiva

Anticuerpo, Avidina, ss/dsDNA, Ligandos, etc.

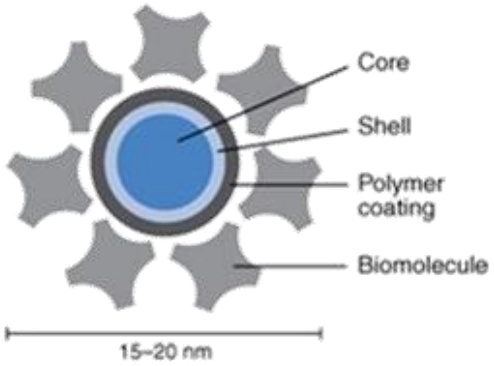


Aplicación:

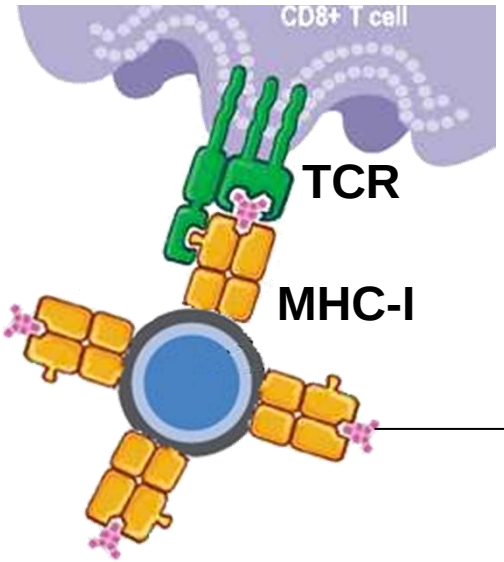
Nature Medicine - **12**, 972 - 977 (2006)
Published online: 23 July 2006; | doi:10.1038/nm1371

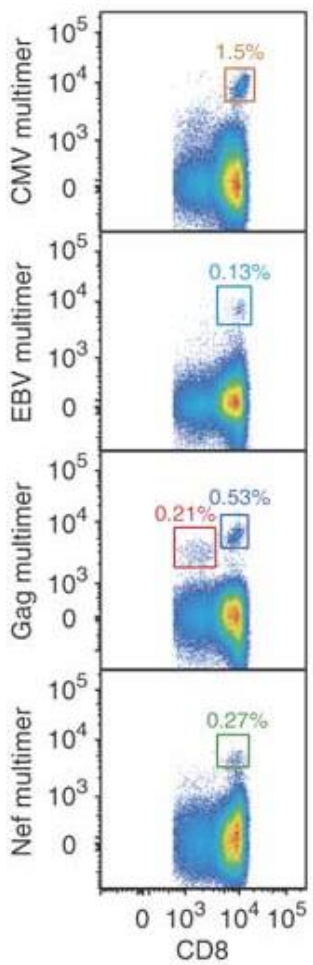
Quantum dot semiconductor nanocrystals for immunophenotyping by polychromatic flow cytometry

Pratip K Chattopadhyay, David A Price, Theresa F Harper, Michael R Betts, Joanne Yu, Emma Gostick, Stephen P Perfetto, Paul Goepfert, Richard A Koup, Stephen C De Rosa, Marcel P Bruchez & Mario Roederer



Multímero





Pratip et al. ***Nature Medicine*** - 12, 972 - 977 (2006)

Fin
Muchas gracias!

Dr. L. Pablo Schierloh, Instituto de I+D en Bioingeniería y Bioinformática IBB-UNER-CONICET.
pschierloh@ingenieria.uner.edu.ar